

Agglutination von Hefezellen
durch E. coli-Stämme vom Hund

Andras Gal

Disbui. München

1987

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr
Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. B. Gedek

Agglutination von Hefezellen
durch E. coli-Stämme
vom Hund

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Andras Gal
aus
Budapest

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. B. Gedek

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. H. Schmidt

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

1. Einleitung	1
2. Die Eltern	2
3. Die Kindheit	3
4. Die Jugend	4
5. Die Ehe	5
6. Die Kinder	6
7. Die Eltern	7
8. Die Kindheit	8
9. Die Jugend	9
10. Die Ehe	10
11. Die Kinder	11
12. Die Eltern	12
13. Die Kindheit	13
14. Die Jugend	14
15. Die Ehe	15
16. Die Kinder	16
17. Die Eltern	17
18. Die Kindheit	18
19. Die Jugend	19
20. Die Ehe	20
21. Die Kinder	21
22. Die Eltern	22
23. Die Kindheit	23
24. Die Jugend	24
25. Die Ehe	25
26. Die Kinder	26
27. Die Eltern	27
28. Die Kindheit	28
29. Die Jugend	29
30. Die Ehe	30
31. Die Kinder	31
32. Die Eltern	32
33. Die Kindheit	33
34. Die Jugend	34
35. Die Ehe	35
36. Die Kinder	36
37. Die Eltern	37
38. Die Kindheit	38
39. Die Jugend	39
40. Die Ehe	40
41. Die Kinder	41
42. Die Eltern	42
43. Die Kindheit	43
44. Die Jugend	44
45. Die Ehe	45
46. Die Kinder	46
47. Die Eltern	47
48. Die Kindheit	48
49. Die Jugend	49
50. Die Ehe	50
51. Die Kinder	51
52. Die Eltern	52
53. Die Kindheit	53
54. Die Jugend	54
55. Die Ehe	55
56. Die Kinder	56
57. Die Eltern	57
58. Die Kindheit	58
59. Die Jugend	59
60. Die Ehe	60
61. Die Kinder	61
62. Die Eltern	62
63. Die Kindheit	63
64. Die Jugend	64
65. Die Ehe	65
66. Die Kinder	66
67. Die Eltern	67
68. Die Kindheit	68
69. Die Jugend	69
70. Die Ehe	70
71. Die Kinder	71
72. Die Eltern	72
73. Die Kindheit	73
74. Die Jugend	74
75. Die Ehe	75
76. Die Kinder	76
77. Die Eltern	77
78. Die Kindheit	78
79. Die Jugend	79
80. Die Ehe	80
81. Die Kinder	81
82. Die Eltern	82
83. Die Kindheit	83
84. Die Jugend	84
85. Die Ehe	85
86. Die Kinder	86
87. Die Eltern	87
88. Die Kindheit	88
89. Die Jugend	89
90. Die Ehe	90
91. Die Kinder	91
92. Die Eltern	92
93. Die Kindheit	93
94. Die Jugend	94
95. Die Ehe	95
96. Die Kinder	96
97. Die Eltern	97
98. Die Kindheit	98
99. Die Jugend	99
100. Die Ehe	100

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Schrifttum	3
2.1.	Antigene und adhäsive Eigenschaften von E. coli	3
2.1.1.	Allgemeine Definition der Antigene	3
2.1.2.	Charakterisierung der Fimbrien	4
2.1.3.	Phänomene der Adhäsion	5
2.1.3.1.	Chemische und physikalische Eigenschaften der Fimbrien	5
2.1.3.2.	Funktionelle Zusammenhänge der Reaktion zwischen Rezeptor und Fimbrien	9
2.1.3.3.	Zellagglutination	12
2.1.3.4.	Charakteristika der Epithelanheftung	16
2.1.3.5.	Faktoren der Beeinflussung der Pilusbildung	19
2.2.	Andere plasmid-kodierte Faktoren von pathogenetischer Bedeutung bei E. coli	21
2.2.1.	Enterotoxine und deren Wirkung	21
2.2.2.	Vorkommen enterotoxinbildender Stämme beim Hund	23
2.2.3.	Arzneimittelresistenz	23
2.2.4.	Auftreten resistenter E. coli-Stämme beim Hund	27
3.	Eigene Untersuchungen	29
3.1.	Material und Methoden	29
3.1.1.	Herkunft der Teststämme	29
3.1.2.	Anzüchtung der Keime	29

3.1.3.	Testung der Hefeagglutination durch E. coli	31
3.1.3.1.	Qualitativer Test zur Bestimmung der Hefeagglutinationsfähigkeit	31
3.1.3.2.	Quantitativer Test zur Bestimmung der Hefeagglutinationsfähigkeit	32
3.1.3.3.	Untersuchung der Hemmung der Hefe- agglutination durch Mannose	34
3.1.3.4.	Untersuchung der Hefeagglutination nach Erhitzung der Hefezellen	34
3.1.4.	Empfindlichkeitsprüfung der E. coli- Stämme vom Hund gegenüber Chemothera- peutika	35
4.	Ergebnisse und deren Besprechung	38
4.1.	Hefeagglutination durch E. coli- Stämme vom Hund	38
4.1.1.	Schnelligkeit der Reaktion und Bil- dung von Agglutinaten	38
4.1.2.	Ausbleiben der Pilusausbildung bei Bebrütung bei 20° C	40
4.1.3.	Hemmung der Hefeagglutination durch E. coli mit Mannose	40
4.1.4.	Hefeagglutination nach Erhitzung der Hefezellen	42
4.2.	Empfindlichkeit der E. coli-Stämme gegen über Chemotherapeutika	42
5.	Diskussion	63
6.	Zusammenfassung	71
	Summary	73
7.	Literaturverzeichnis	75

1. Einleitung

Enteropathogene *Escherichia* (*E.*) *coli*-Stämme spielen unter den Enteritiserregern eine bedeutende Rolle. Neben der Toxinbildung ist die Fähigkeit der Keime sich am Darmepithel anzuheften ein wichtiger Faktor bei der Entstehung des Krankheitskomplexes der Enteritis. Für die Anheftung werden sogenannte Adhäsine verantwortlich gemacht, die bei *E. coli*-Stämmen von Schwein, Rind, Schaf und Mensch bereits recht gut charakterisiert sind, dagegen beim Hund noch wenig erforscht sind.

Es ist bekannt, daß *E. coli*-Bakterien nicht nur imstande sind zu einer Anheftung an das Darmepithel, sondern daß sie auch eukaryotische Zellen wie Erythrozyten, Leukozyten oder Hefezellen agglutinieren können. Die Agglutinationsfähigkeit ist eng verknüpft mit dem Vorhandensein sogenannter Adhäsionsfaktoren, weshalb ausgehend von dieser Eigenschaft Rückschlüsse auf die Virulenz der Keime gezogen werden. Da zwischen den Hefearten, insbesondere im Verhalten von *Saccharomyces* (*S.*) *cerevisiae* und *Candida* (*C.*) *albicans* in vivo erhebliche Unterschiede bestehen, sollten die agglutinierenden Eigenschaften von *E. coli* diesen beiden Hefen gegenüber im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden und dazu Stämme vom Hund herangezogen werden, um hier die Kenntnisse über das Vorkommen von Anheftungs-faktoren zu erweitern. Da sollte u.a. auch mit Stämmen gearbeitet werden, bei denen die Befähigung zur Enterotoxinbildung nachgewiesen wurde. Ferner

gehörte es zu meiner Aufgabe, ergänzend dazu die *E. coli*-Keime vom Hund auch hinsichtlich ihrer Resistenz gegenüber Chemotherapeutika zu prüfen, denn nach bisherigen Kenntnissen hierüber sollen die Resistenz gegenüber mehreren Antibiotika und gleichzeitig pathogenetisch wichtige Virulenzfaktoren, wozu auch die Befähigung zur Adhäsion gehört, nicht vergesellschaftet miteinander bei ein und demselben Bakterium vorkommen. Da *Saccharomyces cerevisiae* schon längere Zeit in der Humanmedizin zur Therapie und Prophylaxe von Durchfallerkrankungen mit Erfolg eingesetzt wird, war es von Interesse Tests speziell mit dieser Hefeart durchzuführen und im Vergleich dazu *Candida albicans* zu prüfen, da sie einen ähnlichen Zellwandaufbau besitzt wie *S. cerevisiae*, und dieser eine große Rolle bei dem Vorgang der Adhäsion mit *E. coli* spielt, aber ansonsten über andere Eigenschaften verfügt.

2. Schrifttum

2.1. Antigene und adhäsive Eigenschaften von E. coli

2.1.1. Allgemeine Definition der Antigene

Escherichia (E.) *coli* ist die einzige Spezies, die die Gattung *Escherichia* repräsentiert und welche zur Familie *Enterobacteriaceae* gehört. Sie bildet 2-6 μm lange und 1-1,5 μm breite plumpe gramnegative sporenlose Stäbchen. Durch eine peritriche Begeißelung sind diese in der Regel beweglich. Auf der Basis unterschiedlicher O-, H- und K-Antigene sind von der Spezies verschiedene Serotypen bekannt. Das Zellwand-, somatische oder O-Antigen besteht aus einem Lipopolysaccharid-Protein-Komplex und ist thermostabil. Bei dem Kapsel- oder K-Antigen handelt es sich um ein saures Polysaccharid, welches je nach der Hitzeempfindlichkeit in drei Fraktionen A, B und L unterteilt wird. Dieses Antigen verursacht zuweilen die O-Inagglutinabilität. Das Geißel- oder H-Antigen hat dagegen Proteincharakter und ist stets thermolabil. Manche E. coli-Stämme sind fähig eine Makrokapsel zu bilden und verfügen dann auch über ein M-Antigen. Bei Vorhandensein zeigen die Bakterien ein mukoides Wachstum.

Bei adhäsiven Keimen können außerdem noch die hitzelabilen, aus Proteineinheiten bestehenden Fimbrien- oder Pilus-Antigene nachweisbar sein. Sie



haben bei enterotoxischen E. coli-Stämmen (ETEC) die Aufgabe, sich an die Darmepithelzelle anzuheften. Die ETEC-Stämme bilden auch das temperaturlabile (LT) und/oder das temperaturstabile Enterotoxin (ST). Zu den adhäsiven Keimen gehören ferner die sogenannten enteropathogenen E. coli (EPEC), die durch die Anheftung und Vermehrung an der Darm-schleimhaut die Zerstörung der Mikrovilli bewirken und dadurch Krankheit auslösen. Bei den enteroinvasiven Keimen (EIEC) erfolgt eine intraepitheliale Vermehrung mit Enterotoxinbildung. (Rolle und Mayr, 1984; Baljer, 1985; Nicolet, 1985).

2.1.2. Charakterisierung der Fimbrien

Schon im Jahr 1950 haben Houwink und van Itersen andere Anhängsel als Flagellen an Bakterien beschrieben und nannten sie Filamente. Diese Bezeichnung war recht unspezifisch und daraufhin haben Duguid et al. im Jahr 1955 die Benennung Fimbrien eingeführt, welche von dem lateinischen fibres (Faden) oder fringe abgeleitet ist. Im Jahr 1959 hat Brinton das lateinische Wort Pili (Haar) als Synonym für Fimbrien verwendet. (Duguid und Anderson, 1967).

Duguid et al. (1955) haben gezeigt, daß diese Fimbrien starre Gebilde sind, die in einer Anzahl von 100 bis 250 pro Bakterienzelle auf deren Oberfläche vorkommen. Von Stamm zu Stamm ist die Zahl der Fimbrien unterschiedlich (Gerstl und Semenitz, 1975).

Nach Duguid et al. (1955) weisen sie in getrocknetem Zustand 0,01 μm Breite und zwischen 0,3 und 1,0 μm selten bis zu 4,0 μm Länge auf. Ausnahmsweise erscheinen auch dicke filamentöse Gebilde, die durch das Zusammenhaften von zwei bis drei Fimbrien entstehen. Gerstl und Semenitz (1975) haben beobachtet, daß Stämme, die viele Fimbrien besitzen, zur Selbstagglutination fähig sind.

Im Jahr 1966 haben Duguid et al. die Fimbrien, die bei gramnegativen Bakterien vorkommen, auf der Basis der Agglutinationseigenschaften in sechs Typen eingeteilt. Heutzutage werden für die Fimbrien von *E. coli* folgende Bezeichnungen verwendet: K 88, K 99, 987 P, F 41, E 8775, CFA/I, CFA/II, CFA/III, P-Fimbrien und Typ 1-Pili.

2.1.3. Phänomene der Adhäsion

2.1.3.1. Chemische und physikalische Eigenschaften der Fimbrien

Um die adhäsiven Eigenschaften von *E. coli* einem Verständnis näher zu bringen, soll ein kurzer Überblick über den molekularen Aufbau der Fimbrien folgen.

Die Mehrzahl der pathogenen und nichtpathogenen *E. coli*-Stämme bilden Typ 1-Fimbrien aus (Gaastra und de Graaf, 1982). Nach Salit und Gotschlich (1977) weisen diese einen Durchmesser von 0,7 nm und eine Länge von 1,5 μm auf. Die Analyse der gereinigten Pili zeigt, daß ungewöhnlich hohe Anteile apolarer

Aminosäuren (45%) vorhanden sind. Die Mehrzahl der geladenen Gruppen sind Säuren (20%), wie Asparaginsäure und Glutaminsäure. Pethica (1980) hat wenig basische Aminosäuren und freie Karboxylgruppen, aber relativ viele Kohlenwasserstoffseitenketten gefunden. Diese Zusammensetzung der Fimbrien deutet auf ihren hydrophoben Charakter hin.

Ihr isoelektrischer Punkt beträgt 4,5, 4,9 und 5,1, was möglicherweise auf eine bestimmte Heterogenität hinweist (Salit und Gotschlich, 1977).

Nach Pethica (1980) ist die Ausbildung der Typ 1-Pili chromosomal kodiert. Ihr Molekulargewicht beträgt 16000.

Die sogenannten 987 P-Fimbrien, welche nur bei *E. coli* des Schweines vorzukommen scheinen, haben Proteincharakter, enthalten aber auch nicht identifizierbare Aminosucker. Betrachtet man diese und die Typ 1-Pili, so kann man morphologische Identität feststellen. Beide sind starr und haben den gleichen Durchmesser von 7 nm. Antigencharakter und Molekulargewicht sind jedoch unterschiedlich. Die 987 P-Fimbrien haben ein Molekulargewicht von 20000 und einen isoelektrischen Punkt von 3,7 (Isaacson und Richter, 1981).

K 99-Fimbrien findet man bei *E. coli* vom Rind, Schaf und Schwein. Isaacson (1977) hat über gereinigte K 99-Fimbrien berichtet, welche aus zwei Proteinuntereinheiten bestanden, nämlich aus einer großen mit einem Molekulargewicht von 29500 und aus einer kleineren mit einem Molekulargewicht von 22500. De Graaf et al. (1980 b) haben jedoch nur eine Einheit mit einem Molekulargewicht von 18500

festgestellt. Isaacson et al. (1981) bestätigten, daß gereinigte K 99-Fimbrien aus nur einer Einheit bestehen. Die Molekularanalyse der K 99-Fimbrien ergab 0,6% neutrale Zucker, 6,6% Lipide, wenig aromatische Aminosäuren und 8% basische Aminosäuren (Isaacson, 1977). Aminosäuren mit apolaren Seitenketten liegen in der Mehrzahl vor, außerdem ist im Gegensatz zu anderen Fimbrienproteinen Cystein vorhanden (de Graaf et al., 1980 b). Der isoelektrische Punkt liegt nach Isaacson (1977) oberhalb von 10; nach de Graaf et al. (1980 b) bei 9,5. Bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung der gereinigten K 99-Fimbrien läßt sich ein Durchmesser von 8,4 nm und eine Länge von 130 nm messen.

De Graaf und Roorda isolierten 1982 von einem enteropathogenen E. coli-Stamm vom Kalb F 41-Pili, welche eine filamentöse Struktur und einen Durchmesser von 3,2 nm aufweisen. Ihr Molekulargewicht beträgt 29000. Das gereinigte Material enthält 95% Protein und 5% Kohlenhydrate. Vergleicht man die N-Terminal-Sequenz von F 41 und K 99, so findet man fünf identische Aminosäurenmoleküle.

Bei dem K 88-Antigen, welches bis jetzt nur bei E. coli vom Schwein isoliert wurde, kann man K 88 ab, K 88 ac und K 88 ad unterscheiden. Ihnen gemeinsam ist das K 88 a-Antigen. Immunoelektrophoretisch zeigen K 88 ab kathodische, K 88 ac kathodische oder anodische und K 88 ad nichtmobile bzw. anodische Eigenschaften. Die zwei verschiedenen ac kann man serologisch nicht unterscheiden (Guinée und Jansen, 1979). Mooi und de Graaf fanden 1979 Molekulargewichte, die sich zwischen 23500 und

26000 bewegten. Die verschiedenen Angaben weisen auf die unterschiedlichen Antigentypen hin. Nach der Trocknung der gereinigten K 88-Pili erhält man 98% Proteine, und Kohlenhydratanteile, welche zwischen 0,06% und 0,28% schwanken. Durch chemische Analysen konnten gewisse Unterschiede in der Aminosäurezusammensetzung entdeckt werden, was den unterschiedlichen Antigencharakter erklärt. K 88-Pili enthalten kein Cystein (Mooi und de Graaf, 1979); d.h. daß hier keine Disulfid-Brücken bestehen, aber hydrophobe oder elektrostatische Interaktionen nicht auszuschließen sind (Gaastra und de Graaf, 1982).

Die plasmidkontrollierten Fimbrien von humanen enterotoxischen E. coli-Stämmen, die ähnlich zu K 88-Pili sind, aber verschiedenen Antigencharakter haben, werden "colonization factor" antigen (CFA) genannt (Satterwhite et al., 1978). Man kennt bis jetzt CFA/I, CFA/II und CFA/III (Honda et al., 1984). Levine et al. haben 1984 erwähnt, daß die meisten CFA/II-positiven ETEC-Stämme die Oberflächenantigene CS 1, CS 2 und CS 3 besitzen. Nach näherer Untersuchung wurden zwischen CS 1 und CS 3 sowohl immunologische als auch morphologische Unterschiede entdeckt. Die CS 3-Antigene sind flexible fibrilläre Fimbrien, welche 2 nm dick sind, während die CS 1-Antigene 6 nm dick und starr sind. Thomas et al. haben 1982 einen neuen Kolonisationsfaktor, nämlich E 8775, beschrieben.

Über die Charakteristika der Fimbrien von Stämmen vom Hund wurde bislang sehr wenig berichtet. Wilk hat 1981 beschrieben, daß 40,6% der untersuchten

E. coli-Stämme von Hunden mit einem oder mehreren der bekannten Fimbrienantiseren reagierten. Allerdings waren die Reaktionen sehr schwach oder verzögert, was normalerweise recht untypisch ist. Elektronenmikroskopische Untersuchungen, die Olson et al. 1985 durchgeführt haben, zeigten zwei unterschiedliche Typen von Fimbrien, nämlich "dicke" mit einer Breite von 5 bis 5,5 nm und einer Länge von 0,2 μ m und "dünne" mit einer Breite von 2 bis 3 nm und einer Länge von 0,4 μ m. Möglicherweise sind bei E. coli-Bakterien vom Hund noch andere Adhäsionsfaktoren als bisher bekannt, vorhanden (Richter, 1984).

Der Vollständigkeit halber muß noch erwähnt werden, daß durch E. coli-Stämme, die sogenannte P-Fimbrien ausbilden, Harnwegsinfektionen ausgelöst werden (Källenius et al., 1981; Tullus und Sjöberg, 1986).

2.1.3.2. Funktionelle Zusammenhänge der Reaktion zwischen Rezeptor und Fimbrien

Es ist schon länger bekannt, daß Fimbrien bei den Adhäsionseigenschaften von E. coli eine Schlüsselrolle einnehmen (Duguid et al., 1955). Die Bindungsfähigkeit läuft auf der molekularen Ebene ab, wobei sich keine eindeutige Aussage über den genauen Mechanismus machen läßt.

Die Gesamtsumme der Oberflächenladung von Eukaryoten- und Prokaryotenzellen ist negativ, wodurch eine abstoßende Kraft zwischen diesen Zellen wirkt. Um diesen Effekt zu überwinden, sind an der Zello-

berfläche hydrophobe Moleküle vorhanden, die die Bindung zwischen Bakterien- und Wirtszelle ermöglichen (Ofek und Beachey, 1980; Jann et al., 1981; Faris et al., 1981; Honda et al., 1984). Die fimbrienträgenden Bakterien besitzen eine niedrigere Dichte der negativen Zelloberflächenladung und einen mehr hydrophoben Charakter als die nicht fimbrienträgenden Vertreter (Duguid und Old, 1980). Daraus folgt, daß die Pili die bestehende elektrostatische Abstoßung zwischen Bakterien- und Wirtszelle überwinden können (Pearce und Buchanan, 1980).

Das Kohlenhydrat D-Mannose stellt eine wichtige inhibitorische Substanz gegen die Anheftung der Zellen dar, indem es möglicherweise die hydrophoben Gruppen der Bakterienzellwand verdeckt und so den Typ 1-Fimbrien einen mehr hydrophilen Charakter verleiht. Als eine andere Erklärung kann angeführt werden, daß die Fimbrienproteine durch die Bindung von D-Mannose so verändert werden, daß sie ihre hydrophoben, adhäsiven Eigenschaften verlieren und in eine hydrophile nichtadhäsive Form übergehen (Duguid und Old, 1980). Jedoch gibt es auch Adhäsionsfaktoren, die hydrophobe Eigenschaften aufweisen, aber durch Mannose nicht beeinflussbar sind (Faris et al., 1981). Es besteht ferner die Möglichkeit, daß auf der Oberfläche eines Bakteriums mehrere Typen von Fimbrien vorhanden sind (Evans et al., 1977; Faris et al., 1981).

Das K 99-Antigen hat einen isoelektrischen Punkt oberhalb von 10 (Isaacson, 1977), was bedeutet, daß es bei einem physiologischen pH-Wert im Dünndarm

positive Ladung trägt, welche sich günstig auf die Adhäsionsfähigkeit auswirkt.

Neben den beschriebenen Fimbrien kennt man auch noch andere Elemente, die zur Anheftung von Bakterien an ihre Wirtszellen beitragen. Eshdat et al. haben 1978 über gereinigtes Lectin berichtet, welches auf der Bakterienoberfläche existiert und sich in der Aminosäurezusammensetzung vom Typ 1-Pili-protein, vom K 99-Protein und von größeren äußeren Membranproteinen unterscheidet.

Die durch Lectin vermittelte Agglutination mit Hefezellen wird am stärksten durch p-Nitrophenyl- α -D-mannosid behindert. Diese Inhibitorsubstanz wirkt 60mal stärker als Methyl- α -D-mannosid. P-Nitrophenyl- α -D-glucosid hemmt nur zweimal schwächer als D-Mannose. Diese Zusammenhänge weisen darauf hin, daß das isolierte Lectin sowohl eine hydrophobe als auch eine zuckerbindende Seite besitzt. Möglicherweise ist dieses Oberflächenprotein bei der mannospezifischen Adhäsion an die Eukaryotenzelle beteiligt. (Eshdat et al., 1978).

E. coli besitzen außer den Antigenen mit Proteinstruktur auch solche, die aus Polysacchariden aufgebaut sind, und die anscheinend ebenfalls zur Anheftung an die Wirtszelle fähig sind. Dies zeigt das Beispiel von Walker und Nagy (1980), die festgestellt haben, daß allein durch den Faktor K 30, welcher ein Polysaccharid ist, Bakterien zur Kolonisation auf Kälberintestinum fähig waren. Allerdings hat dieses Antigen zusammen mit dem K 99-Antigen einen viel höheren Effekt.

2.1.3.3. Zellagglutination

Schon 1955 haben Duguid et al. eine enge Korrelation zwischen fimbrientragenden *E. coli* und Hämagglutinationsaktivitäten festgestellt. Diese Adhäsionseigenschaft ist aber nicht nur gegen Erythrozyten gerichtet, sondern auch gegen andere Zelltypen wie Phagozyten, Epithelzellen, Pilzsporen und Hefezellen (Blumenstock und Jann, 1982; Duguid und Old, 1980; Ofek et al., 1977; usw.)

Besitzt ein Bakterium die Fähigkeit sich an einer bestimmten Zelle anzuheften, so heißt das nicht, daß es in der Lage ist, sich auch an andere Zellen anzuheften. Es ist nicht einmal gesagt, daß sich das Bakterium an verschiedene Zellen der gleichen Spezies anheften kann (Duguid und Old, 1980).

Bei der Hämagglutination durch Bakterien wird eine mannosesensitive (MS), die bei *E. coli* mit Typ 1-Pili vorkommt, und eine mannoseresistente (MR), die bei *E. coli* mit anderen Adhäsionsfaktoren vorkommt, unterschieden (Duguid und Old, 1980; Evans et al., 1979; Gaastra und de Graaf, 1982; usw.), wobei beide Arten von Anheftungsfaktoren gleichzeitig oder getrennt bei *E. coli* auftreten können (Evans et al., 1979; Jann et al., 1981). Der stärkste inhibitorische Effekt auf die Hämagglutination kann durch den Zusatz von Methyl- α -D-mannosid, gefolgt von D-Mannose und Hefemannan, erzielt werden (Blumenstock und Jann, 1982; Eshdat et al., 1978; Salit und Gotschlich, 1977). Charakteristisch bei der Hämagglutination ist, daß die *E. coli*-Stämme mit Erythrozyten verschiedener Spezies unterschied-

lich reagieren. E. coli mit Typ 1-Pili agglutinieren am schnellsten Meerschweinchenerythrozyten (Blumenstock und Jann, 1982; Duguid et al., 1955, Jann et al., 1981; Salit und Gotschlich, 1977), wobei der gleiche Stamm ohne Pili dazu nicht mehr fähig ist (Salit und Gotschlich, 1977). Bemerkenswert ist, daß Neuraminidase die Agglutinabilität erhöht (Salit und Gotschlich, 1977), was möglicherweise einer Freilegung der verdeckten Bindungsseiten oder einer Reduktion der negativen Oberflächenladung (Pearce und Buchanan, 1980) zuzuschreiben ist. MR-Hämagglutination von Meerschweinchenerythrozyten erfolgt durch K 88-Antigen (Guinée und Jansen, 1979) und durch F 41-Antigen (de Graaf und Roorda, 1982). Die F 41-Fimbrien zeigen auch noch eine starke Reaktion mit humanen Erythrozyten und eine schwache Agglutination mit Schaf- bzw. Pferder erythrozyten. Mit den letztgenannten reagierten K 99-Pili stärker als F 41-Fimbrien.

CFA/I positive ETEC-Stämme des Menschen zeigen mannoseresistente Hämagglutination mit Menschen-, Rinder- und Hühnererythrozyten, aber keine Reaktion mit Meerschweinchenerythrozyten. CFA/II-Fimbrien reagieren in Gegenwart von Mannose nur mit Rinder- und Hühnererythrozyten. Der von Thomas et al. (1982) entdeckte Antigentyp E 8775 verursacht mannoseresistente Hämagglutination mit Menschen- und Rindererythrozyten.

Die bisher erwähnten Hämagglutinationen sind stets durch die verschiedenen Fimbrien ausgelöst worden. Pal et al. haben aber 1984 einen E. coli-Stamm beschrieben, welcher zur zellassozierten, nicht fim-

brialen mannoseresistenten Hämagglutination mit Menschen- und Hühnererythrozyten fähig war. Das Hämagglutinationsvermögen von E. coli-Stämmen vom Hund wurde von verschiedenen Autoren untersucht. Unter den Stämmen, die Wilk 1981 getestet hat, waren 15,1% in der Lage Erythrozyten vom Pferd und Meerschweinchen zu agglutinieren, wobei nur ein Stamm Mannoseresistenz aufwies. Richter (1984) fand unter den 21 untersuchten enterotoxinbildenden E. coli-Stämmen ebenfalls nur einen mit der Fähigkeit zur mannoseresistenten Hämagglutination. Nach Saito (1985) reagierten von 28 enterotoxinbildenden Stämmen 18 mit Meerschweinchenerythrozyten, davon 4 in Gegenwart von Mannose. Baljer et al. haben 1986 berichtet, daß E. coli-Stämme vom Hund, die thermostabile Toxine bildeten, mannoseresistente Hämagglutination entweder mit Schaf- oder mit Pferdeerythrozyten auslösten; Hunde- und Meerschweinchenerythrozyten wurden von nur schwach enterotoxinbildenden E. coli agglutiniert. Bemerkenswert ist, daß die mannoseresistente Hämagglutination mit hämolysierenden Eigenschaften gekoppelt ist.

Nicht jeder Adhäsionsfaktor ist jedoch in der Lage sich mit Erythrozyten zu verbinden. So wurde bei 987 P- und CFA/III-Fimbrien keinerlei Hämagglutination beobachtet (Nagy et al., 1977; Isaacson und Richter, 1981; Honda et al., 1984).

Die Adhäsionseigenschaften äußern sich aber nicht nur gegenüber Erythrozyten, sondern z.B. auch gegenüber Phagozyten. Die MS-Pili zeigen zu diesem Zelltyp eine Affinität, während die MR-Pili nicht in der Lage sind, sich an Phagozyten anzuheften.

Dies deutet darauf hin, daß die Plasmamembran von Phagozyten keine Rezeptoren für MR-Pili aufweist oder diese versteckt sind. Aus klinischer Sicht kann angenommen werden, daß *E. coli* mit MS-Pili in vivo durch Phagozyten eher eliminiert werden, als solche mit MR-Pili (Blumenstock und Jann, 1982).

Über die Fähigkeit von *E. coli* zur Agglutination von Hefezellen hat Rosenthal schon 1942 berichtet. Bei den Gattungen *Saccharomyces* und *Candida* ist in der Zellwand Mannan vorhanden (Spencer und Gorin, 1973; Fleet, 1984). Mannan kommt nicht nur als Antigen bei *Candida* und möglicherweise auch bei anderen Hefearten Bedeutung zu (Spencer und Gorin, 1973), sondern es spielt anscheinend im Zusammenhang mit den Vorgängen der Adhäsion von *E. coli* auch eine maßgebliche Rolle (Ofek et al., 1977).

Duguid et al. haben 1955 festgestellt, daß *E. coli*-Stämme, die Fimbrien tragen, imstande sind, *Candida albicans* zu agglutinieren. Aber nicht nur intakte Hefezellen, sondern auch lösliches Mannan unterliegt der Verklumpung (Ofek et al., 1977). Bei einer Inkubation der *E. coli* mit Mannan oder mit *Saccharomyces cerevisiae* erfolgt eine deutliche Agglutination nach 30 Minuten. Dieser Vorgang kann durch D-Mannose oder durch Methyl- α -D-mannopyranosid blockiert werden (Ofek et al., 1977; Eshdat et al., 1978). Eshdat et al. haben 1978 mit gereinigtem Lectin von *E. coli* eine Hefeagglutination erreicht.

Im Jahr 1982 haben Blumenstock und Jann beobachtet,

daß die MS-Pili, welche mit *S. cerevisiae* reagierten, auch eine MS-Adhäsion an Phagozyten zeigten. Mirelman et al. haben 1980 angegeben, daß die mannosebindenden *E. coli*-Stämme, die mit *S. cerevisiae* und *C. albicans* reagierten, eine niedrige Serotypenzahl aufwiesen (am häufigsten Serotyp 06) und hauptsächlich von Urin und Blut isoliert wurden. 46% der von ihnen getesteten *E. coli*-Stämme führten zur Hefeagglutination.

Ofek und Beachey haben 1978 durch ihre Versuche herausgefunden, daß die Schnelligkeit der Reaktion zwischen *C. albicans* und *E. coli* mit der Fähigkeit der Bakterien sich an Epithelzellen anzuheften, korreliert ist, woraus gefolgert werden kann, daß sich trotz verschiedener Zelltypen möglicherweise die gleichen Vorgänge abspielen. In diesem Zusammenhang wurde auch noch beobachtet, daß Hefezellen, die mit Natrium-meta-periodat behandelt worden waren, von *E. coli* nicht mehr zur Agglutination gebracht werden konnten, da die benachbarte Hydroxylgruppe des Zuckers verändert wurde.

2.1.3.4. Charakteristika der Epithelanheftung

Die Kolonisation der enteropathogenen *E. coli* wird erleichtert durch ihre Fähigkeit sich am Darmepithel anzuheften, und ermöglicht ihnen der Darmmotilität zu widerstehen (Evans et al., 1977; Levine et al., 1980). Diese Adhäsion beruht wie bei der Häm-agglutination und der Hefeagglutination auf der Anheftungsfähigkeit der Fimbrien. So ist verständ-

lich, daß auch die inhibitorischen Substanzen für die MS-Pili die gleichen sind. Es wird durch D-Mannose und Methyl- α -D-mannopyranosid die Anheftung von *E. coli* an die Epithelzellen verhindert (Ofek et al., 1977), durch Methyl- α -D-glucopyranosid jedoch nicht mehr (Ofek und Beachey, 1978). Durch die erwähnten Zuckerbausteine ist die Bakterienoberfläche gesättigt, wobei keine Bindungsstellen mehr für Mannose oder mannoseähnliche Strukturen der Epithelmembran frei sind (Ofek et al., 1977). Vermutlich erkennen MS-Fimbrien Rezeptoren, die α -Mannose enthalten und möglicherweise in der Endposition des Glycoproteins oder Glykolipids der Plasmamembran anzutreffen sind (Ofek et al., 1978; Cheney et al., 1980; Blumenstock und Jann, 1982). Nach der Behandlung der Epithelzellen mit Natrium-meta-periodat erfolgt keine Verknüpfung mehr mit *E. coli*. Ebenso verhindert Concanavalin A, welches D-Mannose bindet, die Adhäsion (Ofek et al., 1977).

Eine direkte Korrelation zwischen der Fähigkeit von *E. coli* zur Hämagglutination und zur Anheftung an andere Eukaryotenzellen wurde nicht festgestellt. Allerdings haben Jann et al. 1981 berichtet, daß sich bei ihren Versuchen die MS-Stämme mit einer Ausnahme auch an Zellmaterial anhefteten. Unter den Bakterien mit MR-Pili befanden sich Vertreter mit unterschiedlicher Affinität, so daß ihre Adhäsion auf verschiedene Rezeptoren an der Eukaryotenzelle zurückzuführen sein kann.

Bertschinger et al. haben 1972 über enteropathogene *E. coli* beim Schwein berichtet, die entlang der Zotten von der Spitze bis zur Basis in der Nähe des

Bürstensaumes, jedoch nicht in den Krypten zu finden waren. Im Gegensatz dazu ließen sich die nicht enteropathogenen *E. coli*-Stämme nur im Darm-lumen in der Nähe der Zottenspitzen nachweisen. In vitro-Versuche von Cheney et al. (1980) mit RDEC 1 (rabbit diarrheagenic *E. coli*) zeigten, daß eine Adhäsion an den intestinalen Bürstensaum vom Kaninchen erfolgte; gegensätzlich verhielt es sich mit den Mikrovilli von Schwein, Ratte und Mensch. Beim Kaninchen waren außerdem die Ileumzellen stärker betroffen als die Jejunumzellen. Isaacson et al. haben 1978 herausgefunden, daß 987 P-, K 99- und Typ 1-Pili in vitro an Darmepithel vom Schwein haften, dabei war aber kein Unterschied zwischen Jejunum und Ileum zu erkennen. Stämme ohne Fimbrien waren unfähig eine Adhäsion auszuführen.

Hinsichtlich der Anheftung der *E. coli* an Epithelzellen waren quantitative Unterschiede zu verzeichnen. So fanden de Graaf und Roorda 1982, daß der Stamm B 41 M, welcher das Antigen F 41 trägt, und der Stamm B 41, welcher die Fähigkeit besitzt sowohl F 41- als auch K 99-Pili zu bilden, nebeneinander auf Darmepithel vom Kalb anzutreffen waren, aber in unterschiedlicher Anzahl. Der Stamm mit beiden Antigenen dominierte gegenüber dem Stamm mit nur einem Antigen. *E. coli*-Stämme mit K 99-Fimbrien waren zahlenmäßig dazwischen zu finden.

In diesem Zusammenhang erscheint auch noch erwähnenswert zu sein, daß akapsuläre *E. coli*-Stämme größere Affinität zum Darmepithel zeigten als kapsuläre (Runnels et al., 1980).

2.1.3.5. Faktoren der Beeinflussung der Pilusausbildung

In der Literatur ist als Faktor der Beeinflussung der Pilusausbildung die Temperatur beschrieben, bei welcher Bakterien wachsen. Isaacson et al. haben 1978 darüber berichtet, daß bei einem Wachstum von *E. coli* bei 18° C die Produktion von K 88-Pili so stark herabgesetzt wird, daß eine Anheftung an das Darmepithel nicht mehr stattfinden kann. Ähnliche Beobachtungen haben Blumenstock und Jann 1982 mit Hilfe des Elektronenmikroskops gemacht. Es wurden aber auch *E. coli*-Bakterien gefunden, die bei pilusrestriktiven Temperaturen gewachsen waren und die ihre Adhäsionseigenschaften nicht verloren hatten (Jann et al., 1981; Blumenstock und Jann, 1982). Diese Stämme verfügen möglicherweise über zusätzliche, sogenannte Zellwandadhäsine (Eshdat et al., 1978). *E. coli*-Bakterien, die mannoseresistente Hämagglutination (MRHA) verursachten, wurden bei einer Bebrütungstemperatur von 22° C MRHA-negativ, wobei parallel auch die Fimbrien verschwanden (Thomas et al., 1982). Bei einer Bebrütung bei 18° C wurden nicht nur die Pili zurückgebildet, sondern die Bakterien verloren auch ihre hydrophoben Eigenschaften (Honda et al., 1984), was auf den Aufbau der Fimbrien zurückzuführen ist. Nach Gaastra und de Graaf (1982) werden alle Adhäsine der enterotoxischen *E. coli*-Stämme bei 18° C Bebrütungstemperatur nicht mehr ausgebildet, außer Typ 1-Fimbrien, deren Entwicklung anscheinend temperaturunabhängig erfolgt.

Daneben gibt es aber auch bestimmte Substanzen, die der Pilusausbildung entgegengerichtet wirken. Es zeigte sich bei Keimen, die in Gegenwart von Nalidixinsäure oder Streptomycin gewachsen waren, daß die Hämagglutinationstiter niedriger ausfielen (Guinée und Jansen, 1979). Bei sublethalen Konzentrationen von Streptomycin verloren *E. coli*-Stämme die Bindungskapazität gegenüber Hefezellen und Epithelzellen (Eisenstein et al., 1979).

Isomere von Alanin unterdrückten die K 99-Synthese, wobei der Mechanismus der Repression noch unklar ist. Vermutlich kommen deshalb Diarrhoen, ausgelöst durch *E. coli*, hauptsächlich in den ersten Tagen nach der Geburt vor, da in diesem Stadium bei den Neugeborenen die Proteinverdauung noch nicht so funktioniert, daß ausreichend Alanin entsteht, um die Bildung der K 99-Fimbrien zu unterdrücken (de Graaf et al., 1980 a).

Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei der Ausbildung von F 41-Pili gemacht (de Graaf und Roorda, 1982). Das weist auf Gemeinsamkeiten in der Biosynthese der beiden Antigene F 41 und K 99 hin.

Indirekt wird die Befähigung zur Adhäsion sicher auch noch durch andere Faktoren beeinflusst. Die Kolonisation der *E. coli*-Bakterien im Darm wird beispielsweise auch gefördert oder verhindert durch die Zusammensetzung der dort ansässigen Mikroflora, die jeweilige Wasserstoffionenkonzentration, die Darmmotilität, das vorhandene Oxidationsreduktionspotential sowie durch die Art und Weise der Ernährung (Cheney et al., 1980).

2.2. Andere plasmid-kodierte Faktoren von pathogenetischer Bedeutung bei *E. coli*

2.2.1. Enterotoxine und deren Wirkung

Bei der Entfaltung krankmachender Wirkungen spielen bei *E. coli*-Stämmen neben den Adhäsionsfaktoren die Enterotoxine, die im Endeffekt für die Diarrhoe verantwortlich gemacht werden, eine große Rolle. Aufgrund ihrer Hitzeempfindlichkeit werden die temperaturlabilen Enterotoxine (LT) mit hohem Molekulargewicht von den temperaturstabilen (ST) mit niedrigem Molekulargewicht unterschieden (Petzinger, 1984; Rolle und Mayr, 1984).

Auf molekularer Ebene haben das Choleratoxin und LT die gleiche Wirkung. Beide aktivieren in den Epithelien die Entstehung von cAMP, welches eine Enzym-Kaskade auslöst, mit dem Resultat, daß die NaCl-Resorption gehemmt, aber gleichzeitig die Cl⁻- und HCO₃⁻-Sekretion stimuliert wird. Mit den Anionen werden auch Na⁺ und H₂O ins Darmlumen abgegeben, was die eigentliche Diarrhoe verursacht. Das ST wirkt über die Bildung von cGMP, wobei dieses ein schwächerer Aktivator darstellt. Damit ist möglicherweise zu erklären, weshalb bei ST-Einfluß der Durchfall milder verläuft (Petzinger, 1984; Powell, 1984).

Wie festgestellt werden konnte, erfolgt ohne Toxinbildung kein Durchfall, aber die Bedeutung der Kolonisationsfaktoren wird dadurch nicht geringer. Satterwhite hat 1978 darauf hingewiesen, daß CFA-positive *E. coli*-Stämme mit gleichzeitiger Toxin-

bildung Diarrhoe erzeugen, bei CFA-negativen Stämmen aber entsteht trotz Aufrechterhaltung der Toxinbildung keine Krankheit.

Die Enterotoxine werden auch durch Plasmide kodiert. Bei den meisten enterotoxischen *E. coli*-Stämmen vom Schwein und Rind ist die Produktion der Adhäsin und Enterotoxine auf getrennten Plasmiden verankert. Allerdings wurden bei einigen K 99-positiven Stämmen die zwei Eigenschaften auf dem gleichen Plasmid beobachtet (Gaastra und de Graaf, 1982; Harnett und Gyles, 1985). Echeverria et al. (1986) sehen auch eine enge Verknüpfung zwischen CFA/I- und ST-Produktion und zwischen CFA/II- und ST- und LT-Produktion. (Tab. 1).

Tabelle 1: Assoziation der Adhäsin- und Enterotoxinproduktion

Adhäsin	Enterotoxin		
	ST	LT	ST + LT
K 88	+	+	+
987 P	+	Ø	Ø
K 99	+	Ø	Ø
F 41	+	Ø	Ø
CFA/I	+	+	+
CFA/II	Ø	Ø	+

(Aus Gaastra und de Graaf, 1982)

2.2.2. Vorkommen enterotoxinbildender Stämme beim Hund

über beim Hund vorkommende *E. coli*-Stämme, die Enterotoxine produzieren, wurde bis jetzt sehr wenig berichtet. Josse et al. (1980) und Richter (1984) fanden nur ST-produzierende *E. coli*. Olson et al. (1984) haben dagegen bei Untersuchungen von Hunden mit akuter Diarrhoe nur LT- und später (Olson et al., 1985) auch ST- und LT-bildende *E. coli* gefunden, wobei man das letztgenannte Toxin nicht mit humanem Anti-LT- oder mit Anticholeratoxin neutralisieren konnte. Dies ist ein Hinweis, daß das LT von *E. coli*-Stämmen vom Hund möglicherweise nicht identisch ist mit dem LT von *E. coli* des Menschen. Saito hat 1985 beschrieben, daß im Darmligaturtest, welcher eine Nachweismethode für die Enterotoxinbildung ist, 51,5% der *E. coli*-Stämme positiv waren, und daß im Babymaustest 10% ST-Bildner waren. Im Zellkulturtest war von den 182 Proben von durchfallkranken Hunden nur ein einziger *E. coli*-Stamm LT-positiv. Nach Baljer et al. (1986) konnten unter 39 *E. coli*-Stämmen von Hunden ein schwacher und zehn starke Enterotoxinbildner nachgewiesen werden, wobei unter den zehn stark positiven fünf ST und ein Stamm LT bildeten.

2.2.3. Arzneimittelresistenz

Die Eigenschaften der Bakterienzellen werden auf DNS-Molekülen determiniert, wobei man chromosomale

und extrachromosomale Elemente unterscheiden kann. Die ringförmigen DNS-Moleküle, die unabhängig von den Chromosomen vorkommen und sich selbständig vermehren, werden Plasmide genannt. Diese Elemente haben eine wichtige Aufgabe beim Überleben von Bakterien. Das ist besonders auffällig, wenn man die Resistenz (R)-Plasmide (R-Faktoren) betrachtet, durch welche eine Vielzahl von Antibiotika- bzw. Chemotherapeutikaresistenzen innerhalb einer Bakterienpopulation entstehen kann. Diese Tatsache erschwert im großen Maße die Behandlung von Infektionskrankheiten (Wiedemann, 1974).

Die genetische Struktur eines R-Faktors beinhaltet 20000 bis 100000 Nukleotidpaare, die man in zwei funktionelle Gruppen einteilen kann: Einmal in den Resistenz-Transfer-Faktor (RTF), der für die Übertragung in andere Bakterienzellen bzw. für die Replikation der Gene zuständig ist, und zweitens in die eigentlichen R-Determinanten (Walter und Heilmeyer, 1975; Knippers, 1982). Wenn diese Einheiten fähig sind sich in die Chromosomen zu integrieren, dann spricht man von sogenannten Episomen (Wiedemann, 1974; Rolle und Mayr, 1984).

Eine Resistenz gegen ein bestimmtes Antibiotikum oder Chemotherapeutikum kann sich in der Bildung von Wirkstoffen bzw. Enzymen, die diese inaktivieren, äußern. Es ist aber auch möglich, daß die Membranpermeabilität oder der Transportmechanismus der Zellwand blockiert wird, und nicht zuletzt können auch Stoffwechselveränderungen eine Rolle spielen (Walter und Heilmeyer, 1975). Der bekannteste Mechanismus der Resistenzausbildung ist die

Produktion von Penicillinase, die den β -Lactam-Ring des Penicillins zur unwirksamen Penicillinsäure hydrolysiert. Die Resistenz der Bakterien gegenüber verschiedenen anderen Penicillinen, wie Ampicillin, Carbenicillin und Cephalosporin ist durch die Produktion von verschiedenen β -Lactamasen gegeben. Gegen die Aminoglykoside Gentamicin, Kanamycin, Neomycin, Streptomycin und Spektinomycin wirken Adenylat-, Acetyl- und Phosphotransferasen, wobei aber auch eine Permeabilitätsänderung der Zellwand nicht auszuschließen ist. R-Faktor bedingte chloramphenicolresistente Keime wandeln das Antibiotikum bei Anwesenheit von Acetyl-Coenzym-A in die 3-Acetoxy- und 1,3-Diacetoxy-Derivate durch eine spezifische Acetyltransferase um. Tetracycline induzieren die Produktion eines Proteins, welches in die Zellwand integriert wird und das Eindringen des Wirkstoffes verhindert. Bei der Resistenzausbildung gegenüber Sulfonamiden wird die Produktion eines diffusionshemmenden Proteins vermutet. (Wiedemann, 1974; Lebek, 1975; Knippers, 1982).

Es sei hier noch zu erwähnen, daß engverwandte Plasmide normalerweise nicht in einer Zelle koexistieren können. Sie zeigen gegenseitige Unverträglichkeit (Inkompatibilität) (Novick, 1981). Dies ist deshalb interessant, weil die nicht enterotoxischen E. coli-Stämme eine höhere Resistenzlage zeigen als die toxinbildenden und weil Keime, die beide Toxine, nämlich LT und ST, produzieren, sehr viel empfindlicher gegenüber Antibiotika sind als Bakterien, die nur einzelne Toxine bilden. Möglicherweise besteht also zwischen dem R- und Entero-

toxin-Plasmid die sogenannte Inkompatibilität.
(Sack, 1978; González und Blanco, 1985).

R-Faktoren haben die Fähigkeit, daß sie in andere Bakterien übertragen werden können und das nicht nur zwischen gleichen Keimarten, sondern auch zwischen verschiedenen Spezies. Allerdings ist die Übertragung von Enterobacteriaceae auf grampositive Stäbchen oder auf Kokken nicht möglich (Sonnen-schein, 1980). Der Vorgang wird aber auch dadurch limitiert, daß Bakterien über einen gewissen Schutzmechanismus, der fremde DNS zerstört, verfügen. E. coli haben z.B. im Gegensatz zu Salmonellen nur einen geringen Zerstörungseffekt, womit das häufige Vorkommen der R-Faktoren bei Colibakterien zu erklären ist (Lebek, 1976).

Davies hat 1978 berichtet, daß bei 83% der resistenten coliformen Keimen von Hunden und Katzen einige oder alle R-Determinanten übertragbar waren. Bei Hirsh et al. (1980) und Monaghan et al. (1981) lag diese Zahl bei 64% und bei den von Moss und Frost (1984) unternommenen Versuchen bei 60%. Ein vollkommener Transfer der Mehrfachresistenz ist von Moss und Frost (1984) mit 42% angegeben worden. Eine Übertragung der Resistenz gegenüber Ampicillin kommt am häufigsten vor, gefolgt von der gegenüber Chloramphenicol. Die Streptomycin- und Tetracyclin-resistenz wird wesentlich seltener übertragen, was zeigt, daß diese zwei Determinanten auf nicht konjugierbaren Plasmiden oder auf Chromosomen in den E. coli-Hundestämmen vorhanden sind (Monaghan et al., 1981). Moss und Frost (1984) fanden dagegen, daß Tetracyclin-, Streptomycin- und Ampicillin-

resistenz leicht weitergegeben wird, gegenüber der von Chloramphenicol und Neomycin.

2.2.4. Auftreten resistenter E. coli-Stämme beim Hund

Hinsichtlich der Verbreitung der Resistenz gegenüber Chemotherapeutika (Antibiotika und synthetische chemische Verbindungen) bestehen regionale Unterschiede (Paul-Ehrlich Gesellschaft, 1980). Deshalb ist es nicht einfach sich einen allgemeinen Überblick, auch was den Hund anbetrifft, zu verschaffen. Zwar ist eine hohe Quote an Tetracyclinresistenz bei E. coli-Stämmen vom Hund von mehreren Autoren (Jentzen, 1979; Hirsh et al., 1980; Oberwallner, 1982; Richter, 1984; usw.) beobachtet worden, was auch für andere Tierarten zutrifft (Gedek, 1972; Lebek, 1975). Über andere Stoffe aber werden recht unterschiedliche Angaben gemacht.

Allgemein variieren die Resistenzquoten der Stämme vom Hund zwischen 38% und 74%, wobei die Angabe des niedrigsten Wertes von Davies und Stewart (1978) und die des höchsten Wertes von Wilk (1981) stammt. Prinzipiell liegt seltener eine Einfachresistenz als Mehrfachresistenz vor (Minton et al., 1983). Auch Zweifachresistenzen wurden bei E. coli-Stämmen vom Hund seltener angetroffen als beispielsweise bei E. coli-Stämmen des Menschen (Davies und Stewart, 1978). Es dominieren einwandfrei die mehrfachresistenten Vertreter dieser Spezies, wobei am häufigsten die Resistenz gegenüber Tetracyclinen in

Kombination mit der Resistenz gegenüber Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamiden und Ampicillin festgestellt wurde (Davies und Stewart, 1978; Hirsh et al., 1980; Moss und Frost, 1984). Hinsichtlich der Ansprechbarkeit der Keime gegenüber Sulfonamid und Trimethoprim zeigte sich ein recht unterschiedliches Verhalten. Amtsberg et al. (1979), Josse et al. (1980) und Richter (1984) beurteilten die Kombination als gut wirksam. Untersuchungen von Wilk (1981) mit 31,5% und Oberwallner (1982) mit 98,2% resistenten Stämme lassen auf das Gegenteil schließen. Gänzlich unwirksam scheinen Erythromycin und Penicillin zu sein (Amtsberg et al., 1979; Wilk, 1981), im Gegensatz zu Gentamicin und Polymyxin B, so daß übereinstimmend diesen Antibiotika gute Chancen in der Therapie gegen E. coli eingeräumt werden (Amtsberg, 1979; Wilk, 1981; Oberwallner, 1982; Richter, 1984). Monaghan et al. (1981) untersuchten E. coli-Isolate von Hunden aus ländlichen und aus städtischen Regionen. Es stellte sich dabei heraus, daß 52% der Isolate ruraler Gegenden und 37% der Isolate urbaner Gegenden gegen drei oder mehr Antibiotika resistent waren. Wilk (1981) wies dabei auch darauf hin, daß E. coli-Isolate von enteritiskranken Hunden häufiger gegenüber Chloramphenicol, Chlortetracyclin, Streptomycin, Neomycin und Kanamycin resistent waren als Vertreter der gleichen Spezies von Hunden ohne Verdauungsstörungen bzw. aus der SPF-Zucht.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Herkunft der Teststämme

Die in die Untersuchungen einbezogenen *E. coli*-Stämme stammten in der Hauptsache von durchfallkranken Hunden. Die Kotproben, aus denen sie isoliert wurden, waren von Tierärzten in das hiesige Institut eingeschickt worden und teilweise bereits auf ihre enterotoxinbildenden Eigenschaften und die Fähigkeit Erythrozyten verschiedener Tierarten und des Menschen zu agglutinieren, untersucht worden. Zum Vergleich wurden *E. coli*-Keime von klinisch gesunden Hunden isoliert und getestet. Bei *Saccharomyces cerevisiae* handelt es sich um den Stamm CBS 5926 des Hefepräparates Perenterol® und bei *Candida albicans* um den Stamm 2173, welcher aus dem Futtersekret einer an Mastitis erkrankten Kuh isoliert worden war.

3.1.2. Anzüchtung der Keime

Die Mehrzahl der *E. coli*-Stämme wurden als Lyophilisate aufbewahrt und mußten deshalb vor der Untersuchung erst wieder zur Vermehrung gebracht werden. Ansonsten erfolgte eine Reinzüchtung der Keime über verschiedene Nährboden direkt aus dem Kot der Hunde.

Zur Verimpfung auf Nährböden wurden die in Ampullen lyophilisierten *E. coli*-Keime jeweils zunächst in 1 ml sterile physiologische Kochsalzlösung übergeführt und davon 0,1 ml auf einer Blut- und einer Gassneragarplatte (Oxoid) ausgespatelt und anschließend bei 37° C unter aeroben Bedingungen 24 Stunden lang bebrütet.

Die Identifizierung der direkt aus Kot isolierten *E. coli*-Keimen erfolgte mit Hilfe des Testsystems Enterotube II (Roche) nach Vereinzelung der Kolonien auf Blut- und Gassneragar. Die *E. coli*-Isolate wurden danach auf Gassneragar bei 4° C aufbewahrt. Der ebenfalls lyophilisierte Hefestamm der Art *Saccharomyces cerevisiae* wurde zunächst in einer Menge von 250 mg mit 10 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Danach wurde eine Öse der Aufschwemmung mit Anwendung des Verdünnungsaussstrichs auf eine Sabouraud-Dextrose-Agarplatte verimpft und der beimpfte Nährboden bei 30° C bebrütet. Von der Schrägagarkultur des unter Luftabschluß kühl gelagerten Hefestammes *Candida albicans* auf Sabouraud-Dextrose-Agar wurde eine Öse voll entnommen und diese gleichfalls, wie die andere Hefeart auf einer Sabouraud-Dextrose-Agarplatte ausgestrichen und bei 30° C bebrütet. Sobald jeweils Hefekolonien sichtbar wurden, erfolgte eine Aufbewahrung der Platten bei Zimmertemperatur. Sämtliche Nährböden wurden von der Firma Merck bezogen.

3.1.3. Testung der Hefeagglutination durch *E. coli*

Die Untersuchungen auf agglutinierende Eigenschaften erfolgte unter Anwendung des allgemein bekannten Verfahren der Objektträgeragglutination, bei der nicht nur eine qualitative, sondern auch eine quantitative Auswertung mit Hilfe der Zählkammer nach Neubauer vorgenommen wurde. Die Versuche wurden mit 33 ausgewählten *E. coli*-Stämmen von durchfallkranken Hunden, bei denen der O-Serotyp, die Toxinbildung und die Reaktion mit Erythrozyten verschiedener Spezies schon bekannt waren, durchgeführt. Außerdem wurden zum Vergleich 20 *E. coli*-Stämme von Hunden, die nicht an Durchfall erkrankt waren, getestet. Bei diesen unterblieb eine nähere Charakterisierung.

3.1.3.1. Qualitativer Test zur Bestimmung der Hefeagglutinationsfähigkeit

Nachdem die Keime von den Gassneragarplatten in Standard I-Nährbouillon (Merck) überimpft und 48 Stunden lang bei 37° C bebrütet worden waren, wurde ein dicker Tropfen der Keimsuspension entnommen und mit einer etwa halbvollen Öse Koloniematerial von *Saccharomyces cerevisiae* auf einem Objektträger vermischt. Mit *Candida albicans* wurde in gleicher Weise vorgegangen. Die Ablesung erfolgte mit bloßem Auge nach den folgenden Kriterien:
Eine deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen innerhalb 15 Sekunden wurde mit +++ bewertet;

eine entsprechende Reaktion innerhalb von 30 Sekunden mit ++ und innerhalb einer Minute mit +. Als negativ wurde das Ergebnis beurteilt, wenn nach einer Minute noch keine sichtbaren Verklumpungen eingetreten waren. Als jeweilige Kontrolle für unspezifische Reaktionen wurden Hefezellen unter gleichen Bedingungen mit Standard I-Nährbouillon ohne Hinzufügung von *E. coli*-Keimen vermischt.

3.1.3.2. Quantitativer Test zur Bestimmung der Hefeagglutinationsfähigkeit

Die *E. coli*-Isolate wurden wie beim vorangehenden Versuch in Standard I-Nährbouillon vorbebrütet. Von den Hefestämmen wurde je eine Kolonie in Sabouraud-Bouillon überimpft und diese ebenfalls über 48 Stunden bei 37° C inkubiert. Nach der Bebrütung wurde die Hefebouillon zunächst geschüttelt und aus dieser jeweils 1 ml entnommen, um damit unter Hinzufügung von physiologischer Kochsalzlösung eine Verdünnung herzustellen und zwar bei *Saccharomyces cerevisiae* im Verhältnis 1:5 und bei *Candida albicans* im Verhältnis 1:7. Die Herstellung der Verdünnung war wegen der Fähigkeit der Hefezellen zur Selbstagglutination erforderlich. Jeweils 1 ml der Verdünnung der Hefebouillon wurde dann zusammen mit 1 ml der zuvor stark geschüttelten *E. coli*-Standard I-Bouillon in ein Kappenröhrchen überführt und 15 Minuten lang bei 350 Umdrehungen pro Minute zur Reaktion gebracht. Die Bewertung der Reaktion erfolgte in einer Neubauer-Zählkammer mit Betrachtung

unter dem Mikroskop bei 400-facher Vergrößerung. Es wurden jeweils die Agglutinate im gesamten Erythrozytenzählnetz ausgezählt. Dabei wurden unterschiedlich große Zusammenballungen beobachtet aber nur solche berücksichtigt, bei denen mindestens 5 Hefezellen aneinander gelagert waren. Als "große" Agglutinate wurden diejenigen Verklumpungen bezeichnet, die die kleinsten Quadrate (0,05mm x 0,05mm) in der Zählkammer ausfüllten, und als "sehr große" Agglutinate wurden diejenigen bewertet, deren Ausmaße mehrere kleinste Quadrate überdeckten. Hierzu ist anzumerken, daß aufgrund der dreidimensionalen Verklumpung der Hefezellen oft eine Einzelauszählung unmöglich war. Zur Kontrolle wurde statt der *E. coli*-Bouillon sterile Standard I-Bouillon unter sonst gleichen Versuchsbedingungen nur mit Hefezellen beimpft und vergleichend zu den anderen Versuchsansätzen mikroskopiert.

Bei allen Versuchen wurde *E. coli* in Standard I-Nährbouillon 48 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Da aber bekannt ist, daß bei einer Temperaturerniedrigung oder durch eine Verkürzung der Bebrütungszeit zwar ein Bakterienwachstum erzielt wird aber die Ausbildung bestimmter Pili nicht stattfindet, wurden deshalb parallel dazu 10 *E. coli*-Stämme ausgewählt, die über 24 Stunden bei nur 20° C angezüchtet wurden und dann qualitativ und quantitativ in Bezug auf ihre agglutinierenden Eigenschaften mit *S. cerevisiae* als Testobjekt untersucht wurden.

3.1.3.3. Untersuchung der Hemmung der Hefeagglutination durch Mannose

Mannose wird bei der Hämagglutination zur Feststellung der Fimbrienart verwendet. Da in Hefezellen Mannose vorhanden ist, stellte sich die Frage, wie diese Substanz auf die Hefeagglutination einwirkt. Es wurde gleichermaßen vorgegangen wie bei den oben beschriebenen Untersuchungen mit quantitativer Bewertung nur mit der Abweichung, daß der mit *E. coli* bewachsenen Standard I-Nährbouillon vor Versuchsbeginn 25 g/l D(+)-Mannose zugesetzt und diese 10 Minuten lang inkubiert worden war. Durch einen weiteren Versuch sollte geklärt werden, ob eine bereits durch *E. coli* erfolgte Hefeverklumpung mit Mannose wieder rückgängig gemacht werden kann. Auch hierbei wurde die oben beschriebene Agglutinationstechnik angewendet, aber anschließend an die Agglutination dem Hefe-*E. coli*-Gemisch 25 g/l D(+)-Mannose zugesetzt und dieses 15 Minuten lang bei 350 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Mit Hilfe der Zählkammer wurde die Zahl der Agglutinate vor und nach der Mannosezugabe ermittelt.

3.1.3.4. Untersuchung der Hefeagglutination nach Erhitzung der Hefezellen

Für diese Untersuchungen wurden 5 *E. coli*-Stämme ausgewählt und gegen *S. cerevisiae* bzw. *C. albicans* getestet. Die Hefezellen wurden wie oben beschrieben vorkultiviert, danach davon 1 ml im vorgewärm-

ten Wasserbad auf 70° C erhitzt und 30 Minuten lang darin belassen. Nach Abkühlung bei Zimmertemperatur erfolgte die Zugabe von 1 ml über 48 Stunden mit E. coli inkubierter Standard I-Nährbouillon, nach dem Schüttelvorgang erfolgte die Auszählung der Agglutinate. Der gleiche Versuch wurde mit zuvor auf 80° C und 90° C erhitzten Hefezellen wiederholt. Zur Kontrolle wurden die erhitzten Hefezellen auch ohne Zusatz von E. coli untersucht und bewertet. Um die Lebensfähigkeit der Hefen nach der Erhitzung zu überprüfen, wurden Subkulturen auf Sabouraud-Dextrose-Agarplatten angelegt.

3.1.4. Empfindlichkeitsprüfung der E. coli-Stämme vom Hund gegenüber Chemotherapeutika

Eine Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Chemotherapeutika wurde mit 201 E. coli-Stämmen unter Anwendung des Plattendiffusionsverfahrens und der Verwendung von Testblättchen der Firma Oxoid durchgeführt. Dazu wurden jeweils einige Kolonien der zu prüfenden Stämme in Standard I-Nährbouillon überimpft und nach Bebrütung über Nacht (in der Regel 18 h) bei 37° C die Bouillon im Verhältnis 1:2 mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Davon wurde zur Beimpfung der Testplatten jeweils eine Öse keimhaltige Bouillon entnommen und der Tropfen mit einem abgeflammtten Drigalskispatel auf Iso-Sensitest-Agar (Oxoid) ausgespatelt. Die mit den zu prüfenden Chemotherapeutika beladenen Testblättchen wurden danach mit einem Dispenser auf den

beimpften Iso-Sensitest-Agar aufgebracht und dann zur Vordiffusion der Substanzen im Nähragar eine Stunde lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach etwa 18-stündiger Bebrütung bei 37° C wurden die Platten abgelesen, wobei die jeweiligen Hemmhofdurchmesser ermittelt wurden. Danach erfolgte die Bewertung. Über Bewertungsgrenzen zwischen resistenten, mäßig sensiblen und sensiblen Keimen gibt Tabelle 2 näher Auskunft.

Tabelle 2: Bewertungsgrenzen der Empfindlichkeit von E. coli gegenüber Chemotherapeutika

Chemotherapeutikum	Beladung der Testblättch. in µg	Hemmhofdurchmesser in mm		
		resist.	mäßig sens.	sensibel
Amoxycillin mit Clavulansäure	30	≤ 13	14-17	≥ 18
Ampicillin	25	≤ 13	14-18	≥ 19
Carbenicillin	100	≤ 17	18-22	≥ 23
Cephalotin	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Chloramphenicol	30	≤ 15	16-17	≥ 18
Doxycyclin	30	≤ 12	13-15	≥ 16
Furazolidon	50	≤ 14	15-16	≥ 17
Gentamicin	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Kanamycin	30	≤ 13	14-17	≥ 18
Nalidixinsäure	30	≤ 13	14-18	≥ 19
Oxytetracyclin	30	≤ 14	15-18	≥ 19
Streptomycin	25	≤ 11	12-14	≥ 15
Sulfonamide	300	≤ 12	13-16	≥ 17
Trimethoprim	5	≤ 10	11-15	≥ 16

4. Ergebnisse und deren Besprechung

4.1. Hefeagglutination durch E. coli-Stämme vom Hund

4.1.1. Schnelligkeit der Reaktion und Bildung von Agglutinaten

Mit 53 E. coli-Stämmen wurden Untersuchungen durchgeführt. 20 stammten von Hunden, die keine Anzeichen einer Krankheit bzw. einer Diarrhoe gezeigt hatten und 33 E. coli-Stämme waren von durchfallkranken Hunden isoliert worden. Bei letzteren waren der O-Serotyp, das Toxinbildungsvermögen und die Reaktion mit Erythrozyten von Saito (1985) bestimmt worden. Die E. coli-Stämme von Tieren mit unterschiedlicher Anamnese wurden vergleichend geprüft um zu sehen, ob sie sich hinsichtlich ihrer Agglutinationseigenschaften unterscheiden. Dabei zeigte sich, daß die Stämme der durchfallkranken Hunde bis auf einen Stamm fähig waren sowohl *S. cerevisiae* als auch *C. albicans* zu agglutinieren. Das kommt einer Agglutinationsrate von 97% gleich (Tab. 3), während bei den E. coli-Stämmen der klinisch gesunden Hunde diese nur 65% betrug (Tab. 4). Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen machte damit über 30% aus, da im Stadium der Eubiose Stämme mit Virulenzeigenschaften gegenüber anderen ohne diese Merkmale zahlenmäßig gegebenenfalls zurücktreten. Allerdings schließt ein negatives Ergebnis

nicht aus, daß die Stämme in der Lage waren mannosespezifische Anheftungsfaktoren zu bilden. Dadurch, daß nahezu alle Stämme von durchfallkranken Hunden eine Hefeagglutination bewirkten gab sich keine Beziehung zwischen dieser, dem O-Serotyp, dem Toxinbildungsvermögen und den hämagglutinierenden Eigenschaften zu erkennen. Zwar wurden quantitative Unterschiede bei der Hefeagglutination festgestellt, diese standen aber nicht in irgendeiner Beziehung zu anderen Eigenschaften der *E. coli*-Stämme, wie z.B. der Hämagglutination mit den Erythrozyten unterschiedlicher tierartlicher Herkunft (Tab. 3).

Ein Unterschied in der Verklumpung zwischen *S. cerevisiae* und *C. albicans* konnte nicht erkannt werden (Tab. 3 und 4). Vermutlich spielt bei diesem Vorgang die Anwesenheit von Mannan die entscheidende Rolle, welches bei beiden Hefearten vorkommt (siehe Schrifttum).

Die Schnelligkeit bei der Objektträgeragglutination und das quantitative Zählergebnis (Zählkammer) läßt sich nicht direkt zueinander in Beziehung setzen. Es ergab sich aber eine gute Übereinstimmung zwischen der Reaktion auf dem Objektträger und der später durchgeführten Untersuchungen unter dem Mikroskop, was das Phänomen der Hefeagglutination als solches anbetrifft. Die Anzahl der Agglutinate in der Zählkammer zeigte bei mehrmaliger Durchführung des Tests nur relativ geringe Abweichungen (bis höchstens 10%), wobei bei diesem Vergleich die Größe der Agglutinate mit berücksichtigt wurde.

4.1.2. Ausbleiben der Pilusbildung bei Bebrütung bei 20° C

Von mehreren Autoren wurde über pilusrestriktive Temperaturen berichtet (siehe Schrifttum), so daß bei einer Bebrütung der *E. coli*-Stämme bei 18° C bis 20° C eine Pilusbildung ausblieb. Bei diesen Temperaturen werden insbesondere die Fimbrien, die die mannoseresistente Hämagglutination (MR) auslösen, nicht gebildet. Die Typ 1-Pili werden dagegen davon jedoch nicht beeinflusst. Diese mannosesensitiven Pili (MS) werden für die Hefeagglutination verantwortlich gemacht (Jann et al., 1981), so daß die Bebrütung der *E. coli*-Keime bei 20° C ohne Einfluß auf die Hefeagglutination sein sollte. Bei der Untersuchung von 10 *E. coli*-Stämmen, die statt bei 37° C bei 20° C über 24 Stunden angezüchtet worden waren, konnte nur mit 4 Stämmen eine Agglutination von *S. cerevisiae* beobachtet werden (Tab. 5). Bei der quantitativen Auswertung waren nur geringgradige Effekte nachweisbar und bei der Objektträgeragglutination reagierten die Stämme innerhalb einer Minute nicht, so daß sie als negativ zu bewerten waren. Anscheinend werden die Typ 1-Pili bei 20° C nur schwach ausgebildet, so daß sie dann außerstande sind, eine Hefeagglutination größeren Ausmaßes zu bewirken.

4.1.3. Hemmung der Hefeagglutination durch *E. coli* mit Mannose

Die geprüften Hefestämme weisen in ihrer Zellwand

Mannosemoleküle auf, welche aller Wahrscheinlichkeit nach bei der Anheftung der Fimbrien von *E. coli* eine Rolle spielen. Unter dem Zusatz von D(+)-Mannose vor der Durchführung des Agglutinationstestes mit *E. coli* erfolgte keine bzw. nur eine ganz schwache Agglutination der Hefen (Tab. 6). Möglicherweise werden die Fimbrien, die für die Anheftung an den Hefezellen verantwortlich sind, durch die zugesetzte Mannose blockiert. Da nicht in jedem Fall eine vollkommene Hemmung eintrat, kann angenommen werden, daß außer der Mannose auch noch andere Faktoren in das Geschehen eingreifen. Interessanterweise brachte eine Zugabe der Mannose im Anschluß an eine bereits erfolgte Agglutination sehr unterschiedliche Ergebnisse (Tab. 6). Vermutlich konnte unter dieser Voraussetzung die Mannose die *E. coli*-Keime nicht mehr von den Hefezellen abhalten oder gar verdrängen. Es war für möglich gehalten worden, daß durch die Mannose eine kompetitive Hemmung der Bindungsstellen erfolgt, wodurch die Agglutinate aufgelöst würden. Dies trat aber nicht in jedem Fall ein. Es besteht die Möglichkeit, daß die Hefeagglutinate durch *E. coli* so kompakt zusammengelagert waren, daß für die zugefügte Mannose kein Zugang mehr bestand. Die Reaktion dauerte doppelt so lang wie diejenige ohne Mannose (siehe Material und Methoden), so daß die Zeit, während dessen eine Zusammenballung abläuft, den Vorgang beeinflussen kann.

4.1.4. Hefeagglutination nach Erhitzung der Hefezellen

Bei der Erhitzung der Hefezellen entstehen gewisse Strukturveränderungen in deren Zellwand, welche die Agglutination beeinflussen können. Durch solche Versuche sollte veranschaulicht werden, in welchem Umfang sich eine Erwärmung auf diesen Vorgang auswirkt. Es zeigte sich bei den Kontrollen, die nicht mit *E. coli* versetzt waren, daß mit höherer Temperatur die Fähigkeit zur Selbstagglutination der Hefezellen zunahm. Auch in Gegenwart von *E. coli* verstärkte sich der Verklumpungseffekt (Tab. 7). Bei der Anlage von Subkulturen von den Kontrollen auf Sabouraud-Dextrose-Agar wurde festgestellt, daß die Hefeerwärmung auf 70° C nicht zur vollständigen Abtötung von *S. cerevisiae* sowie von *C. albicans* führte.

4.2. Empfindlichkeit der *E. coli*-Stämme gegenüber Chemotherapeutika

201 *E. coli*-Stämme von Hundekotproben wurden auf ihre Resistenzeigenschaften gegenüber 14 Chemotherapeutika getestet. Davon stammten 181 von durchfallkranken Hunden, die restlichen 20 von klinisch gesunden Hunden. Die Untersuchungen ergaben, daß von den 201 Stämmen 106 (52,7%) Resistenz gegenüber einem bzw. mehreren Chemotherapeutika aufwiesen. Die höchste Resistenzquote wurde gegenüber Sulfonamiden mit 42,3% festgestellt, die Werte von Oxy-

tetracyclin (33,8%), Doxycyclin (30,4%) und Streptomycin (30,8%) lagen jedoch nur ungefähr 10% darunter. Die Resistenz gegenüber Sulfonamiden trat oft in Vergesellschaftung mit einer Resistenz gegenüber Streptomycin auf, was möglicherweise auf ein gemeinsames Plasmid hindeutet, da eine Parallelresistenz zwischen Sulfonamiden und Antibiotika nicht bekannt ist. Dagegen besteht gegenüber den Tetracyclinen eine komplette Parallelresistenz (Walter und Heilmeyer, 1975), was die überwiegende Zahl der mehrfachresistenten Keime dieser Untersuchung auch bestätigt und wonach anzunehmen ist, daß die Resistenz plasmid-kodiert ist.

Gegenüber Chloramphenicol wurde eine Resistenzquote von 21,9% festgestellt. Die Resistenz gegenüber diesem Antibiotikum trat am häufigsten mit einer gleichzeitigen Resistenz gegenüber Tetracyclinen auf. Gegenüber Ampicillin und Carbenicillin war eine Resistenz unter der gleichen Voraussetzung zu beobachten und trat gleichzeitig bei den mehrfachresistenten Stämmen auf, was wiederum mit einer Parallelresistenz zu erklären ist.

Kanamycin und Gentamicin gehören zwar beide zu den Aminoglykosiden, aber es zeigten sich trotzdem Unterschiede in der Ansprechbarkeit der Keime. Gegenüber Gentamicin waren 100% der Stämme sensibel, gegenüber Kanamycin jedoch nur 80,6%. Gentamicinresistente Erreger zeigen oft auch Resistenzen gegenüber anderen Stoffen, unter anderen auch gegenüber Kanamycin, dagegen erweisen sich kanamycinresistente Keime oftmals noch empfindlich gegenüber Gentamicin (Walter und Heilmeyer, 1975).

Trimethoprim wird in Kombination mit Sulfomethoxazol verwendet, da beide Verbindungen bei der Blockierung der Folsäuresynthese der Bakterien synergistisch wirken. 15,4% der Stämme zeigten Resistenz gegenüber Trimethoprim. Diese Quote ist damit wesentlich niedriger als diejenige gegenüber Sulfonamiden.

Furazolidon ist ein Nitrofuran-Derivat, das seit 1967 in Deutschland beim Menschen nicht mehr therapeutisch eingesetzt werden darf. Die hohe Sensibilität der Keime gegenüber diesem Wirkstoff (90,5%) ist vermutlich diesem Umstand zu verdanken.

Cephalotin, das zur Gruppe der Cephalosporinen gehört, wird in der Tierheilkunde nicht so oft verwendet, was eher der Preisfrage zuzuschreiben ist als seiner Wirkungsintensität gegenüber Bakterien, denn nur 4% der E. coli-Isolate erwiesen sich als resistent. Cephalosporine haben einen ähnlichen chemischen Aufbau wie die Penicilline, zeigen aber im Vergleich zu diesen eine bessere Wirksamkeit gegenüber gramnegativen Erregern und größere Stabilität gegen die Inaktivierung durch β -Lactamasen. Gegen diese Inaktivierung wird auch die Clavulansäure (isoliert aus *Streptococcus clavoligersus*), die ein Lactamaseinhibitor darstellt, dem Amoxycillin zugesetzt (Frimmer, 1986). Mit dieser Zusammensetzung wurde bei der Untersuchung eine 94%ige Sensibilität unter den E. coli-Stämmen vom Hund erreicht. Eine ähnlich gute Wirkung wurde mit Nalidixinsäure erzielt, obwohl diese Substanz überwiegend bei Harnwegsinfektionen verwendet wird. Die Ergebnisse sind im einzelnen den Tabellen 8, 9 und 10 zu entnehmen.

Bei der Gegenüberstellung der einfach- und mehrfacharzneimittelresistenten Stämme (Tab. 11) fällt auf, daß Zweifachresistenzen mit 13,4% weit häufiger vertreten waren als die anderen Merkmalskombinationen. Dabei war die schon vorher erwähnte Streptomycin-Sulfonamid-Resistenz am häufigsten vertreten. Es ist bemerkenswert, daß sogar ein elffachresistenter Stamm vorhanden war, und daß Neun- bzw. Zehnfachresistenzen bei den Stämmen zwischen 3% und 4% ausmachten. Die größte Variationsbreite in den Einzelmerkmalen wurde bei drei- bzw. achtfachresistenten Keimen beobachtet.

Zusammenfassend verdient herausgestellt zu werden, daß für therapeutische Zwecke danach vor allem zur Behandlung von Darminfektionen durch *E. coli* am besten Gentamicin und Amoxycillin kombiniert mit Clavulansäure geeignet sein dürften, während Sulfonamide, Tetracycline und Streptomycin nur begrenzt einsetzbar wären.

Tabelle 3a: Ergebnisse der Prüfung der E. coli-Stämme durchfallkranker Hunde auf hefeagglutinierende Eigenschaften

Stamm Nr. 84/	O- Sero- typ	Toxin- bil- dung	Reaktionen mit Erythrozyten von				S. cerevisiae SR Aggl. (n)	C. albicans SR Aggl. (n)				
			Schf	Pfd	Msch	Hhn	Hd	Mschw				
C	6	3+	Ø	MS	Ø	Ø	MS	MS	+++	6(1gr)	+++	8
D	4	1+	Ø	Ø	Ø	Ø	MR	Ø	+++	11	+++	5
N	8	1+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MR	+++	8	+++	6(2gr)
R	65	2+	MR	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	++	8	++	2(2gr)
Z	4	1+	MS	Ø	Ø	Ø	MS	Ø	+	5	+	5
2N	4	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MS	Ø	++	7(2gr)	+++	8
2Q	4	1+	MR	MS	Ø	MR	MR	MR	+++	7	+++	6
2S	8	3+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MR	++	10	++	9(1sgr)
2V	2	3+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	++	12	++	6
2W	83	Ø	Ø	MS	MS	Ø	MS	MS	+++	8(1sgr)	+++	10
3I	5	4+,ST	Ø	MR	MS	Ø	Ø	Ø	++	9	+++	8
1313	11	1+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	7(1gr)	+++	6
1400	105	3+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	++	4(1gr)	+++	5

Tabelle 3b

Stamm Nr. 84/	O- Sero- typ	Toxin- bil- dung	Reaktionen mit Erythrozyten von	Schf	Pfd	Msch	Hhn	Hd	Mschw	S. cerevisiae SR	Aggl. (n)	C. albicans SR Aggl. (n)
1467	Ø	3+, LT	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MS	+++	7(1gr)	+++ 6(1sgr)
1578	2	2+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	7	+++ 3(1gr)
1725	83	2+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	11	+++ 5
1755/1	42	1+	Ø	MS	MS	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	11	+++ 7(1sgr)
1963	5	2+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MS	+++	16	+++ 10
2195	102	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	7	+++ 10
2369	6	2+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MR MS	++	9	++ 11
2389	6	2+	MR	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+	6	+ 10
2506	42	1+, ST	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	6	+++ 6
2573	5	4+, ST	MR	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	+++	7	+++ 7
2771	6	1+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MS	+++	8	+++ 7
2966	4	1+	Ø	MS	Ø	Ø	Ø	Ø	MS	+++	9(1gr)	+++ 10
3046	6	±	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MR	+++	6	++ 4
3134	105	±	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MR	+++	7(1gr)	+++ 4

Tabelle 3c

Stamm Nr. 84/	O- Sero- typ	Toxin- bil- dung	Reaktionen mit Erythrozyten von				S. cerevisiae SR Aggl. (n)	C. albicans SR Aggl. (n)			
			Schf	Pfd	Msch	Hhn Hd			Mschw		
3208	42	4+,ST	MR	Ø	Ø	Ø	MS	+++	6(1sgr)	+++	6(3gr)
3351	42	4+,ST	Ø	Ø	Ø	Ø	MS	+++	11(3gr)	+++	8
3353	4	1+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
3628	4	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	MR	Ø	9(1gr)	+++	5
3690/2	105	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	++	8	++	4
3808	42	4+,ST	MR	Ø	Ø	Ø	MS	Ø	7(1sgr)	+++	8

SR = Schnelligkeit der Reaktion;
 Aggl. (n) = Anzahl der Agglutinate im gesamten Erythrozytenzählnetz;
 Schf = Schaf; Pfd = Pferd; Msch = Mensch; Hhn = Huhn; Hd = Hund;
 Mschw = Meerschweinchen;
 MR = mannoseresistente Hämagglutination; MS = mannosesensitive Hämagglutination;
 Ø = negativ;
 + = deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen zwischen 31 und 60 Sekunden;
 ++ = deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen zwischen 16 und 30 Sekunden;
 +++ = deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen innerhalb 15 Sekunden;
 gr = "große" Agglutinate, sie füllten die kleinsten Quadrate der Zahlkammer aus;
 sgr = "sehr große" Agglutinate, sie überdeckten mehrere kleinste Quadrate;
 ST = temperaturstabiles Enterotoxin; LT = temperaturlabiles Enterotoxin

Tabelle 4: Ergebnisse der Prüfung der E. coli-Stämme von klinisch gesunden Hunden auf hefeagglutinierende Eigenschaften

Stamm Nr.	Hämo- lyse	S. cerevisiae		C. albicans	
		SR	Aggl. (n)	SR	Aggl. (n)
KD 1	ø	ø	ø	ø	1
KD 2	h	+++	6(1gr)	+++	11
KD 3a	ø	ø	ø	ø	1
KD 3b	ø	ø	ø	ø	ø
KD 4	ø	+++	10	+++	11
KD 5	ø	ø	ø	ø	ø
KD 8	ø	+++	10(2gr)	+++	5(1gr)
KD 9	ø	+++	5	+++	12
KD 11	ø	++	6	++	8
KD 12	ø	ø	1	ø	1
KD 13	ø	++	11(1gr)	++	5(1gr+1sgr)
KD 14	ø	ø	1	ø	ø
KD 15	ø	+++	11	+++	12
KD 16	ø	+++	16	+++	9
KD 17	ø	+++	8	+++	7
KD 18	ø	ø	2	ø	2
KD 20	ø	+	8	+	7
KD 21	ø	+++	10	+++	9(1gr)
KD 22	ø	+++	5(1gr)	+++	3(1gr)
KD 23	h	+++	7	+++	7(1gr)

Zeichenerklärung zur Tabelle 4:

SR	= Schnelligkeit der Reaktion
Aggl. (n)	= Anzahl der Agglutinate im gesamten Erythrozytenzählnetz der Zählkammer
ø	= negativ
+	= deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen zwischen 31 und 60 Sekunden
++	= deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen zwischen 16 und 30 Sekunden
+++	= deutlich sichtbare Agglutination der Hefezellen innerhalb 15 Sekunden
gr	= "große" Agglutinate, sie füllten die kleinsten Quadrate der Zählkammer aus
sgr	= "sehr große" Agglutinate, sie überdeckten mehrere kleinste Quadrate der Zählkammer
h	= Hämolyse positiv

Tabelle 5: Ergebnisse der Prüfung von E. coli-Stämmen auf hefeagglutinierende Eigenschaften nach Anzucht bei 20° C

Stamm Nr./84	Saccharomyces cerevisiae	
	SR	Aggl. (n)
2W	ø	ø
2573	ø	1
3690/2	ø	ø
3208	ø	ø
D	ø	2
3351	ø	ø
3I	ø	2
2Q	ø	2
2369	ø	ø
2771	ø	ø

Zeichenerklärung: SR = Schnelligkeit der Reaktion;
Aggl. (n) = Anzahl der Agglutinate im gesamten Erythrozytenzählnetz der Zählkammer; ø = keine Agglutination der Hefezellen

Tabelle 6a: Ergebnisse der Prüfung von E. coli-Stämmen auf Hefeagglutinationsfähigkeit vor und nach Zugabe von Mannose

Stamm Nr. 84/	Saccharomyces cerevisiae		Candida albicans			
	Anzahl von Agglutinativen Mannosezugabe		Anzahl von Agglutinativen Mannosezugabe			
	keine	vor Aggl.	keine	vor Aggl.		
	nach Aggl.		nach Aggl.			
C	6 (1gr)	6	1	8	1	0
D	11	8	1	5	2	1
N	8	8	0	6 (2gr)	4	0
R	8	3	0	2 (2gr)	4	1
Z	5	6	0	5	3	1
2N	7 (2gr)	6	1	8	4	2
2Q	7	6	3	6	2	1
2S	10	7 (1sgr)	0	9 (1sgr)	3	0
2V	12	1	0	6	5	1
2W	8 (1sgr)	4	1	10	5	2
3I	9	10	0	8	1	1
1313	7 (1gr)	4	0	6	3	1

Tabelle 6b

Stamm Nr. 84/	Saccharomyces cerevisiae		Candida albicans	
	Anzahl von Agglutinativen Mannosezugabe		Anzahl von Agglutinativen Mannosezugabe	
	keine	nach Aggl. vor Aggl.	keine	nach Aggl. vor Aggl.
1400	4 (1gr)	5	1	5
1467	7 (1gr)	6	6 (1sgr)	6
1578	7	3	3 (1gr.)	1
1725	11	8	5	2
1755/1	11	6	7 (1sgr)	4
1963	16	6	10	3
2195	7	9	10	7
2369	9	6	11	5
2389	6	3	10	4
2506	6	2	6	1
2573	7	8	7	6
2771	8	8	7	1

Tabelle 6c

Stamm Nr. 84/	Saccharomyces cerevisiae		Candida albicans	
	Anzahl von Agglutinativen Mannosezugabe		Anzahl von Agglutinativen Mannosezugabe	
	keine	vor Aggl.	keine	vor Aggl.
2966	9(1gr)	4	1	10
3046	6	2	1	4
3134	7(1gr)	3	0	4
3208	6(1sgr)	6(1gr)	3	6(3gr)
3351	11(3gr)	8	2	8
3353	0	0	0	0
3628	9(1gr)	4	0	5
3690/2	8	2	2	4
3808	7(1sgr)	8	0	8

gr = "große" Agglutinate, sie füllten die kleinsten Quadrate der Zählkammer aus;
sgr = "sehr große" Agglutinate, sie überdeckten mehrere kleinste Quadrate

Tabelle 7: Ergebnisse der Prüfung von E. coli-Stämmen auf Hefeagglutinationsfähigkeit nach Erhitzung der Hefezellen

Stamm Nr. 84/	Saccharomyces cerevisiae Anzahl von Agglutinaten			Candida albicans Anzahl von Agglutinaten		
	70°C	80°C	90°C	70°C	80°C	90°C
2573	7	10	5 (1gr)	3 (1gr)	8 (1gr)	7
3208	9 (1gr)	17	7 (1sgr)	4	11	11 (1sgr)
2S	9	13	21	9	4 (1gr)	10
3351	5	8 (1gr)	8 (2gr)	7	9	7 (1gr)
2Q	10 (1sgr)	8 (2gr)	19 (6gr)	7 (1gr)	2 (2gr)	8
Kontrolle	1	2	3	1	4	4

gr = "große" Agglutinate, sie füllten die kleinsten Quadrate der Zahlkammer aus;
sgr = "sehr große" Agglutinate, sie überdeckten mehrere kleinste Quadrate

Tabelle 8: Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung gegenüber
Chemotherapeutika aller getesteter E. coli-Stämme
in Prozent

Chemotherapeutikum	resistent %	mäßig sensibel %	sensibel %
<u>Tetracycline</u>			
Oxytetracyclin	33,8	11,0	55,2
Doxycyclin	30,4	13,4	56,2
<u>Aminoglykoside</u>			
Streptomycin	30,8	9,0	60,2
Kanamycin	18,4	1,0	80,6
Gentamicin	0	0	100,0
<u>Phenicol</u>			
Chloramphenicol	21,9	0	78,1
<u>β-Lactam Antibiotika</u>			
Amoxycillin mit Clavulansäure	1,5	4,5	94,0
Ampicillin	20,4	0	79,6
Carbenicillin	21,4	1,0	77,6
Cephalotin	4,0	19,4	76,6
<u>Sonstige</u>			
Nalidixinsäure	0	0,5	99,5
Furazolidon	6,5	3,0	90,5
Sulfonamid	42,3	41,8	15,9
Trimethoprim	15,4	0	84,6

Tabelle 9: Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung von E. coli-Stämmen klinisch gesunder Hunde gegenüber Chemotherapeutika

Chemotherapeutikum	resistent n	mäßig sensibel n	sensibel n
<u>Tetracycline</u>			
Oxytetracyclin	5	1	14
Doxycyclin	5	0	15
<u>Aminoglykoside</u>			
Streptomycin	6	0	14
Kanamycin	1	0	19
Gentamicin	0	0	20
<u>Phenicolle</u>			
Chloramphenicol	3	0	17
<u>β-Lactam Antibiotika</u>			
Amoxycillin mit Clavulansäure	2	1	17
Ampicillin	4	0	16
Carbenicillin	4	0	16
Cephalotin	1	8	11
<u>Sonstige</u>			
Nalidixinsäure	0	0	20
Furazolidon	2	0	18
Sulfonamid	7	11	2
Trimethoprim	2	0	18

Tabelle 10: Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung von E. coli-Stämmen von durchfallkranken Hunden gegenüber Chemotherapeutika

Chemotherapeutikum	resistent n	mäßig sensibel n	sensibel n
<u>Tetracycline</u>			
Oxytetracyclin	63	21	97
Doxycyclin	56	27	98
<u>Aminoglykoside</u>			
Streptomycin	56	18	107
Kanamycin	36	2	143
Gentamicin	0	0	181
<u>Phenicole</u>			
Chloramphenicol	41	0	140
<u>β-Lactam</u>			
<u>Antibiotika</u>			
Amoxycillin mit Clavulansäure	1	8	172
Ampicillin	37	0	144
Carbenicillin	39	2	140
Cephalotin	7	31	143
<u>Sonstige</u>			
Nalidixinsäure	0	1	180
Furazolidon	11	6	164
Sulfonamid	78	73	30
Trimethoprim	29	0	152

Tabelle 11a: Merkmalskombinationen in den Resistenzeigenschaften der geprüften E. coli-Stämme vom Hund (n = 201)

Resistenzart	Chemotherapeutika															
	OT	Do	S	K	CN	C	Amc	Amp	CAR	KF	NA	FR	S3	W	n	%
einfach	x														2	
		x													2	
						x									1	
									x						2	
										x					1	
zweifach													x		2	
														x	2	
															Σ 12	5,9
	x	x													3	
	x			x	x								x		1	
dreifach															2	
															19	
				x	x			x	x						2	
															Σ 27	13,4
															4	
dreifach	x	x											x		1	
	x		x	x											1	
	x		x										x		1	
	x			x	x								x		1	
			x	x	x					x					1	
dreifach			x												1	
			x									x			1	
				x											Σ 10	5,0

Tabelle 11b

Resistenzart

Chemotherapeutika

	OT	Do	S	K	CN	C	Amc	Amp	CAR	KF	NA	FR	S3	W	n	%
vierfach	x	x	x										x		5	
	x	x				x							x		4	
	x	x										x	x		1	
	x		x										x	x	1	
	x			x		x							x		1	
														Σ	12	5,9
fünffach	x	x	x					x	x						1	
	x	x	x										x	x	1	
	x	x				x						x	x		1	
	x	x						x	x				x		1	
														Σ	4	2,0
sechsfach	x	x	x	x		x							x		1	
	x	x	x					x	x				x		1	
	x	x		x		x							x	x	2	
	x	x				x		x	x				x		2	
														Σ	6	3,0
siebenfach	x	x	x	x		x							x	x	1	
	x	x	x			x						x	x	x	1	
	x	x		x		x			x				x		1	
	x	x		x				x	x				x	x	1	
	x		x			x		x	x				x	x	2	
														Σ	7	3,5

Tabelle 11c

Resistenzart

Chemotherapeutika

	OT	Do	S	K	CN	C	Amc	Amp	CAR	KF	NA	FR	S3	W	n	%
achtfach	x	x	x	x	x	x	x	x	x				x		6	
	x	x	x	x				x	x				x	x	1	
	x	x	x	x			x	x	x				x		1	
	x	x	x				x	x	x				x	x	2	
	x	x	x	x			x	x	x				x	x	1	
	x	x					x	x	x	x		x	x	x	1	
	x	x					x	x	x	x		x	x	x	1	
	x			x				x	x	x					1	
															Σ 13	6,5
neunfach	x	x	x	x		x		x	x	x			x		1	
	x	x	x	x		x		x	x				x	x	4	
	x	x	x			x		x	x			x	x	x	2	
	x	x		x		x		x	x	x			x	x	1	
															Σ 8	4,0
zehnfach	x	x	x	x		x		x	x			x	x	x	5	
	x	x		x		x		x	x	x			x	x	1	
							x								Σ 6	3,0
elffach	x	x	x	x		x		x	x	x			x	x	1	
															Σ 1	0,5

OT = Oxytetracyclin

Do = Doxycyclin

S = Streptomycin

K = Kanamycin

CN = Gentamicin

C

Amc

Amp

CAR

C = Chloramphenicol

Amc = Amoxycillin mit

Clavulansäure

Amp = Ampicillin

CAR = Carbenicillin

KF

NA

FR

S3

W

KF = Cephalotin

NA = Nalidixinsäure

FR = Furazolidon

S3 = Sulfonamid

W = Trimethoprim

Tabelle 12: Gegenüberstellung der Arzneimittelresistenz der *E. coli*-Stämme mit und ohne hefeagglutinierenden Eigenschaften

Resi- stente Stämme	Anzahl insge- samt	OT	Do	S	K	CN	C	Amc	Amp	CAR	KF	NA	FR	S3	W	Σ/n
hefe- agglut.	45	8	8	14	6	0	6	0	6	6	1	0	2	15	4	1,7
nicht hefe- agglut.	8	4	4	4	1	0	2	2	3	3	1	0	1	5	1	3,8

 Σ/n = durchschnittliche Zahl von Resistenzdeterminanten' pro Stamm

OT = Oxytetracyclin
Do = Doxycyclin
S = Streptomycin
K = Kanamycin
CN = Gentamicin
C = Chloramphenicol
Amc = Amoxycillin mit
Clavulansäure
Amp = Ampicillin
CAR = Carbenicillin
KF = Cephalotin
NA = Nalidixinsäure
FR = Furazolidon
S3 = Sulfonamid
W = Trimethoprim

5. Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß *E. coli*-Stämme von durchfallkranken Hunden in 97% der Fälle fähig waren, die zwei ausgewählten, als Zuckerbausteine u.a. Mannose in der Zellwand enthaltende Hefearten zu agglutinieren. Prozentual waren es von klinisch gesunden Hunden weitaus weniger. Mirelmann et al. (1980) hatten dagegen bei der Testung von humanen *E. coli*-Stämmen nur 46%, die mit Hefe agglutinierten, ermittelt. Dabei wurde allerdings nicht geprüft, ob diese Stämme pathogene Eigenschaften aufwiesen oder nicht. Bei einer Zusammenfassung der eigenen Untersuchungsergebnissen lag der Durchschnittswert für positive Reaktionen bei 85% und damit fast doppelt so hoch. Das bedeutet nicht, daß die *E. coli*-Stämme vom Hund etwa häufiger über pathogene Eigenschaften verfügen als diejenigen des Menschen, denn die Agglutination der Hefen ist der mannosesensitiven Hämagglutination gleichzusetzen, wie die Experimente mit Mannose gezeigt haben (Salit und Gotschlich, 1977; Jann et al., 1981). Letztere stellt eine Nachweismethode für Typ 1-Pili dar, denen im allgemeinen keine pathogenetische Bedeutung beigemessen wird. Allerdings haben Levine et al. 1980 darüber berichtet, daß *E. coli* mit Typ 1-Fimbrien Durchfall erzeugen kann. In jedem Fall dürfte aber diese Art von Fimbrien durch ihre Anheftung an mannoseähnliche Rezeptoren eine Hilfestellung bei bakteriellen Infektionen leisten

können (Ofek et al., 1978; Levine et al., 1980). Möglicherweise wird durch ihren hydrophoben Charakter eine Anziehung an die Epithelzelle gefördert und damit eventuell erst anderen Fimbrien eine spezifische Bindung ermöglicht (Ofek et al., 1977; Isaacson, 1977). Bei den E. coli-Stämmen, die nicht fähig waren die Hefen zu agglutinieren, spielte vermutlich eine dichte peritriche Begeißelung eine Rolle (Blumenstock und Jann, 1982), oder die Typ 1-Pili waren überhaupt nicht vorhanden.

Die Schnelligkeit der Reaktion zwischen Hefezellen und E. coli soll mit der Fähigkeit der E. coli-Keime, sich an Epithelzellen anzuheften, korreliert sein (Ofek und Beachey, 1978). Ein diesbezüglich unterschiedliches Verhalten wurde auch bei den eigenen Untersuchungen beobachtet und kann gegebenenfalls hinweisen auf die Virulenz eines Stammes. Die unterschiedliche Anzahl von Pili auf der Bakterienoberfläche spielt dabei sicher eine ausschlaggebende Rolle. Interessanterweise waren auch Stämme darunter, die die Hefen stark agglutinierten, aber keine Hämagglutination bewirkten. Allerdings wurden die Versuche nicht mit allen in Frage kommenden Erythrozyten durchgeführt. Jann et al. (1981) berichteten darüber, daß die von ihnen untersuchten E. coli-Stämme, die eine mannosesensitive Hämagglutination mit Erythrozyten vom Meerschweinchen auslösten, stets auch die Fähigkeit zur Hefeagglutination zeigten. Dies konnte bei den eigenen Untersuchungen somit nicht in jedem Fall nachvollzogen werden.

Sowohl mit α -Methyl-D-mannosid als auch mit D-Man-

nose und Hefemannan können die stärksten inhibitorischen Effekte erzielt werden, wenn Typ 1- Pili für eine Hämagglutination verantwortlich zeichnen (Salit und Gotschlich, 1977). Desgleichen konnte die Agglutination der Hefe *S. cerevisiae* durch *E. coli* mit Methyl- α -mannosid bei Untersuchungen durch Blumenstock und Jann (1982) verhindert werden. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen war bei 33 *E. coli*-Stämmen vom Hund mit D(+)-Mannose die Agglutination der Hefen stark eingeschränkt. Dies kann als ein Beweis dafür angesehen werden, daß bei diesem Vorgang Typ 1-Fimbrien auf jeden Fall mitbeteiligt waren.

Aufgrund der Beeinflussbarkeit der Agglutination eukaryotischer Zellen durch die oben genannten Substanzen stellt sich die Frage, ob eine Verwendung in der Therapie der *E. coli*-Infektionen beim Hund wie in der Humanmedizin (Hirschberger, 1977) versucht werden sollte. Es überrascht nicht, daß *S. cerevisiae* auf diese Weise eine regulatorische Funktion innerhalb der Darmflora nach oraler Applikation übernehmen kann (Gedek, 1975 und 1986). Diese apathogene Hefeart, die lebend verabreicht wird (Gedek, 1975), ist allerdings auch noch wegen anderer positiver Eigenschaften hoch geschätzt. So geht von ihr nicht nur eine florastabilisierende Wirkung (Gedek, 1975) aus, sondern sie beeinflusst auch das Immunsystem mit der Aktivierung des Komplementsystems, Steigerung der Phagozytoserate und Erhöhung des Lysozymspiegels (Thiemann, 1984). *Candida albicans* hat im inaktivierten Zustand eine ähnliche Wirkung, in dem sie die Produktion von In-

terferon anregt (Spagnoli et al., 1985).

Bei der Bebrütung der *E. coli*-Stämme bei pilussuppressiven Temperaturen, wurden Fimbrien wie erwartet nicht oder nur schwach ausgebildet (Isaacson et al., 1978; Jann et al., 1981; Blumenstock und Jann, 1982). Allerdings ist nach Gaastra und de Graaf (1982) nur die Ausbildung der Typ 1-Pili temperaturunabhängig. Unter den 10 *E. coli*-Stämmen, die bei Zimmertemperatur angezüchtet wurden, konnte dennoch bei 4 Stämmen eine schwache Hefeagglutinationsfähigkeit nachgewiesen werden. Entweder waren hierbei die Typ 1-Pili lediglich schwächer ausgebildet, oder aber der sogenannte mannosespezifische Zellwandadhäsionsfaktor war für die Reaktion letztenendes verantwortlich (Eshdat et al., 1978; Blumenstock und Jann, 1982).

Nach der Erhitzung der Hefen konnte keine Lebensfähigkeit mehr nachgewiesen werden, wenn die Temperatur 80° C betragen hatte, die Agglutinationsbereitschaft aber bestand weiterhin. Dies ist nicht unbedeutend für die Hefe *Candida albicans*, da sie im lebenden Zustand Systemmykosen bei Mensch und Tier hervorruft (Gedek, 1968 und 1980). Unter diesem Aspekt scheint die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* geeigneter für Therapie und Prophylaxe zu sein, die sich als Kulturhefe für die Gewinnung von obergärigem Bier und zu Backzwecken seit Jahrhunderten bewährt hat und deren Einsatz bei Mensch und Tier selbst im lebensfähigen Zustand kein gesundheitliches Risiko bedeutet. Auch hat es den Anschein, als ob die Reaktivität gegenüber dieser Heefeart höher war nach der Zahl der jeweils gebilde-

ten Agglutinate als gegenüber *Candida albicans*, was auf den unterschiedlichen Gehalt an Mannan zurückgeführt werden kann.

Hinsichtlich der Resistenz gegenüber Chemotherapeutika erwiesen sich 52,7% der *E. coli*-Stämme gegenüber einem oder mehreren Stoffen gleichzeitig als resistent. Dies befindet sich in Übereinstimmung mit den von anderen Autoren angegebenen Werten (Jentzen, 1979; Weis und Grosser, 1979; Moss und Frost, 1984).

Über die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Resistenzdeterminanten wurden oft unterschiedliche Angaben gemacht. Gegenüber Tetracyclinen resistente *E. coli*-Stämme wurden im allgemeinen häufig nachgewiesen. Bei den eigenen Untersuchungen lag die Quote für Oxytetracyclin bei 33,8% und für Doxycyclin bei 30,4%. Dies wird auch von Bryan (1974) bestätigt, der eine Tetracyclinresistenz von 30% ermittelte, während Hariharan und Barnum (1974) und Oberwallner (1982) über eine 90%ige, Richter (1984) über eine 67%ige und Jentzen (1979) und Wilk (1981) über eine 42 bzw. 48%ige Resistenz berichteten. Bei einer Studie der Paul-Ehrlich Gesellschaft (1980), die nicht nur Proben von Tieren, sondern auch von Menschen umfaßte, ergab sich ebenfalls eine 30%ige Resistenz. Obwohl ein Unterschied zwischen der Resistenz gegenüber Oxytetracyclin und Doxycyclin kaum festzustellen war, sollte nach Bartlett et al. (1975) dem Einsatz von Doxycyclin der Vorzug gegeben werden, weil durch dieses Antibiotikum unter der Behandlung weniger resistente *E. coli*-Keime auftreten sollen.

Da die Resistenz gegenüber Sulfonamiden 42,3% ausmachte, ergab sich eine annähernd gleiche Quote hierfür wie von Jentzen (1979) (37%) festgestellt worden war. Dagegen befand sich das Ergebnis nicht in Übereinstimmung mit Quoten von Hariharan und Barnum (1974) (51,5%), Wilk (1981) (90,4%) und Oberwallner (1982) (98,2%).

Die Quote der Streptomycinresistenz war mit 30,8% wiederum von weitgehender Übereinstimmung mit Jentzen (1979), während andere Autoren wie Bryan (1974) und Oberwallner (1982) über niedrigere Resistenzen berichteten, nämlich 20% und 17%, Wilk (1981) dagegen mit 41,6% eine höhere Resistenzquote angab.

Gegenüber Chloramphenicol erwiesen sich 21,9% der Stämme als resistent, was mit dem Ergebnis von Hariharan und Barnum (1974) übereinstimmt. Wilk (1981) gab stattdessen 26% Resistenz an. Interessanterweise konnte er in der Gruppe der SPF-Tiere nur 13,4% gegenüber Chloramphenicol resistente Isolate finden. Möglicherweise war dies auf die seltenere Anwendung dieses Antibiotikums bei diesen Tieren zurückzuführen. Ähnliches wurde auch bei Chlortetracyclin beobachtet. Etwas höhere Werte der Chloramphenicolresistenz zeigten die von Richter (1984) untersuchten Stämme (33%); Jentzen (1979) und Oberwallner (1982) berichteten über niedrigere Werte von nur 15% bzw. 14,3%.

Gegenüber Ampicillin und Kanamycin waren 20,4% und 18,4% der E. coli-Stämme resistent. Der letztere Wert stimmt nahezu mit den von Weis (1979) und Wilk (1981) gefundenen Ergebnissen überein. Gegensätz-

liche Befunde teilten Jentzen (1979) mit 8% und Oberwallner (1982) mit nur 2,7% mit. Ähnliche Abweichungen werden auch bei der Ampicillinresistenz beobachtet. Während Jentzen (1979) nur 11%, Wilk (1981) 16,4% und Richter (1984) 19% feststellten, hatte Oberwallner (1982) dagegen 27,7% resistente Vertreter ermittelt.

Die untersuchten Stämme zeigten gegenüber Carbenicillin mit 21,4% eine höhere Resistenz als von Oberwallner (1982) beschrieben wurde (12,5%).

Trimethoprim war relativ gut wirksam. Von anderen Autoren wurden darüber aber vermutlich deshalb keine Angaben gemacht, da diese Verbindung nicht allein, sondern in Kombination eingesetzt wird. Ebenso konnten über Furazolidon, Cephalotin und Amoxycillin mit Clavulansäure keine Angaben in der Literatur gefunden werden.

Hohe Empfindlichkeit zeigten die E. coli-Stämme gegenüber Gentamicin, was auch von zahlreichen anderen Autoren (Bryan, 1974; Richter, 1984; usw.) festgestellt worden ist. Lediglich Oberwallner stellte eine Resistenz von 4,5% fest.

Sehr gute Wirksamkeit unter in vitro-Bedingungen wurde mit Nalidixinsäure erzielt. Oberwallner (1982) fand dagegen 15,2% resistente Stämme.

Bei der Betrachtung des Auftretens der mehrfach-resistenten Stämme fiel der relativ hohe Prozentsatz an Zweifach- und Achtfachresistenz auf. Bemerkenswert ist, daß sogar ein elffachresistenter Stamm gefunden wurde, worüber von anderen Autoren in vergleichbaren Untersuchungen bisher nicht berichtet worden ist. Ohne Zweifel ist derartiges

Auftreten von Mehrfachresistenzen übertragbaren R-Plasmiden zuzuschreiben. Die breite Anwendung von Antibiotika in der Veterinärmedizin und der enge Kontakt zwischen Hunden und deren Besitzern dürfte ein wesentlicher Faktor bei der Verbreitung von R-Plasmiden zwischen den Populationen von Mensch und Tier sein (Davies und Stewart, 1978).

Zusammengefaßt kann zur Resistenzlage gesagt werden, daß unter den *E. coli*-Stämmen vom Hund in den letzten Jahren keine größeren Veränderungen eingetreten sind, was nicht bedeuten soll, daß vor Therapiebeginn eine Empfindlichkeitsprüfung der Bakterien unterbleiben kann, sondern nach Möglichkeit durchgeführt werden sollte, um die Selektion resistenter Keime nicht unnötig zu fördern.

Bei Berücksichtigung der Zahl der Resistenzdeterminanten pro Stamm der insgesamt 53 auf hefeagglutinierende Eigenschaften getesteten *E. coli*-Stämme vom Hund stellte sich heraus, daß die hefeagglutinierenden Stämme im Durchschnitt nur gegenüber 1,7 der geprüften Stoffe resistent waren, während die nicht agglutinierenden Stämme im Durchschnitt gegenüber 3,8 der geprüften Stoffe resistent waren (Tab. 12). Dieser Befund steht im Einklang mit den früheren Beobachtungen anderer Untersucher, wonach sich Vorkommen von Virulenzfaktoren und mehrfache Arzneimittelresistenz bei ein und demselben Stamm einander ausschließen.

6. Zusammenfassung

53 *E. coli*-Stämme vom Hund wurden auf ihre Eigenschaft Hefen der Spezies *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida albicans* zu agglutinieren, untersucht. Davon waren 33 Stämme von durchfallkranken Hunden und 20 Stämme von klinisch gesunden Hunden isoliert worden. Von den 33 *E. coli*-Stämmen waren 97% und von den 20 65% in der Lage, die Hefen mehr oder weniger stark zu verklumpen. *E. coli*-Stämme, die zuvor mit D(+)-Mannose inkubiert worden waren, lösten nur noch eine schwache oder auch gar keine Hefeaagglutination mehr aus, was darauf zurückgeführt wird, daß für die Agglutination der Hefezellen der mannosesensitive Typ 1 der Fimbrien verantwortlich war. Durch die 10 *E. coli*-Stämme, die bei pilusrestriktiven Temperaturen angezüchtet wurden, war ebenfalls keine oder nur eine schwache Agglutination der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* hervorgerufen worden. Möglicherweise bewirkte die niedrigere Bebrütungstemperatur von 20° C anstelle von 37° C, daß keine oder nur eine schwache Ausbildung mannosesensitiver Pili erfolgte. Für die nur schwach positiven Reaktionen können auch mannosespezifische Zellwandadhäsine verantwortlich gemacht werden. Auf die Agglutination von *S. cerevisiae* und *C. albicans* durch *E. coli*-Stämme vom Hund wirkte sich die vorherige Erwärmung der Hefesuspension auf 70° C, 80° C bzw. 90° C nicht nachteilig aus. Von insgesamt 201 mit dem Plattendiffusionsver-

fahren auf die Empfindlichkeit gegenüber einem oder mehreren Antibiotika und synthetischen Verbindungen untersuchten *E. coli*-Hundestämme waren 52,7% resistent. Die Resistenzquoten betrugen im einzelnen Oxytetracyclin 33,8%, Doxycyclin 30,4%, Streptomycin 30,8%, Kanamycin 18,4%, Gentamicin 0%, Chloramphenicol 21,9%, Amoxycillin mit Clavulansäure 1,5%, Ampicillin 20,4%, Carbenicillin 21,4%, Cephalotin 4,0%, Nalidixinsäure 0%, Furazolidon 6,5%, Sulfonamid 42,3% und Trimethoprim 15,4%. Der Stamm mit der höchsten Mehrfachresistenz, die gefunden wurde, war elffachresistent.

In der Höhe der Resistenzquoten gegenüber den getesteten 14 Stoffen wichen die *E. coli*-Stämme durchfallkranker Hunde und klinisch gesunder Tiere nicht nennenswert voneinander ab. Bei Berücksichtigung der Hefeagglutinationsfähigkeit und der durchschnittlichen Zahl von Resistenzdeterminanten pro Stamm stellte sich ein entgegengesetztes Verhalten heraus; Stämme mit agglutinierenden Eigenschaften wiesen im Durchschnitt 1,7 Resistenzdeterminanten und Stämme mit nichtagglutinierenden Eigenschaften 3,8 Resistenzdeterminanten auf. Dies spricht dafür, daß pathogene Merkmale nicht zwingend korreliert sind mit hoher Mehrfachresistenz gegenüber Chemotherapeutika.

Summary

Agglutination of Yeast cells by canine *E. coli* strains

Fifty three *E. coli* strains from dogs were examined to determine their ability to agglutinate the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans*. Thirty three of these strains were isolated from dogs with diarrhoea and the other 20 from clinically healthy dogs. Ninety seven percent of the 33 *E. coli* strains and 65% of the 20 *E. coli* strains were able to cause a relatively strong clumping together of yeast cells. *E. coli* strains which had been previously incubated with D(+)-mannose produced no, or only weak, yeast cell agglutination, from which can be concluded that the mannose sensitive Typ 1 fimbria are responsible for yeast cell agglutination. Ten *E. coli* strains, grown at a pilus restrictive temperature, also produced little or no agglutination in *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells. It is possible that the lower incubation temperature of 20° C, instead of 37° C, allows little or no pili development. Mannose-specific cell wall adhesions may be responsible for the weak positive reactions. Preheating the yeast cells to 70° C, 80° C, or 90° C had no negative effect on the ability of canine *E. coli* strains to agglutinate *S. cerevisiae* and *C. albicans*. 52.7% of the 201 plate diffusion tests of canine *E.*

coli strains performed to determine sensitivity to various antibiotics and synthetic compounds were resistant. The resistance quota for the individual substances is as follows: oxytetracycline 33.8%, doxycycline 30.4%, streptomycin 30.8%, kanamycin 18.4%, gentamicin 0%, chloramphenicol 21.9%, amoxycillin with clavulanic acid 1.5%, ampicillin 20.4%, carbenicillin 21.4%, cephalotin 4.0%, nalidixic acid 0%, furazolidone 6.5%, sulphonamide 42.3%, trimethoprim 15.4%. The strain with the highest multiple resistance found was resistant to eleven substances.

E. coli strains from dogs with diarrhoea and from clinically healthy dogs showed no significant difference in the light of the resistance quota to the 14 substances tested. The ability to agglutinate yeast showed an inverse relationship to the average number of resistance determinants pro strain; strains showing the ability to cause agglutination averaged 1.7 resistance determinants while non-agglutinating strains averaged 3.8 resistance determinants. This means that pathogenic features are not necessarily correlated with multiple resistance to chemotherapeutics.

Literaturverzeichnis

Amtsberg, G., Stäcker, W., Müller-Peddinghaus, R.,
Kirpal, G., 1979:

Beitrag zur Ätiologie und Diagnostik von Harn-
wegsinfektionen beim Hund.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 358-364

Baljer, G., 1985:

Pathogenese, Klinik und Diagnose der wichtig-
sten bakteriell bedingten Enteritiden beim Tier
Tierärztl. Prax. 13, 141-150

Baljer, G., Saito, M., Mayr, A., 1986:

Nachweis von Enterotoxinbildenden E. coli-
Stämmen (ETEC) bei Hunden mit akuter Gastro-
enteritis

Der praktische Tierarzt 6, 472-478

Bartlett, J.G., Bustetter, L.A., Gorbach, S.L.,
Onderdonk, A.B., 1975:

Comparative effect of Tetracycline and Doxy-
cycline on the occurrence of resistant Esche-
richia coli in the fecal flora

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 7,
55-57

Bertschinger, H.U., Moon, H.W., Whipp, S.C., 1972:

Association of Escherichia coli with the small
intestinal epithelium

Infection and Immunity 5, 595-695

Blumenstock, E., Jann, K., 1982:

Adhesion of piliated *Escherichia coli* strains
to phagocytes: Differences between bacteria
with mannose-sensitive pili and those with
mannose-resistant pili
Infection and Immunity 35, 264-269

Bryan, D.T., 1974:

Clinical experience with Gentamycin in small
animals
Veterinary medicine / small animal clinician
1509-1512

Cheney, C.P., Schad, P.A., Formal, S.B., Boedeker,
E.C., 1980:

Species specificity of in vitro *Escherichia coli*
adherence to host intestinal cell membranes and
its correlation with in vivo colonization and
infectivity
Infection and Immunity 28, 1019-1027

Davies, M., Stewart, P.R., 1978:

Transferable drug resistance in man and ani-
mals: genetic relationship between R-plasmids
in enteric bacteria from man and domestic pets
Australian Veterinary Journal 54, 507-512

Duguid, J.P., Smith, I.W., Dempster, G., Edmunds,
P.N., 1955:

Non-flagellar filamentous appendages (fimbriae)
and haemagglutinating activity in *Bacterium*
coli
J. Path. Bact. 70, 335-347

- Duguid, J.P., Anderson, E.S., Campbell, I., 1966:
Fimbriae and adhesion in Salmonellae
J. Path. Bact. 92, 131-132
- Duguid, J.P., Anderson, E.S., 1967:
Terminology of bacterial fimbriae, or pili, and
their types
Nature 215, 89-90
- Duguid, J.P., Old, D.C., 1980:
Adhesive properties of Enterobacteriaceae
In: Beachey, E.H., Bacterial adherence
(receptors and recognition B 6), 187-217
- Echeverria, P., Seriwatana, J., Taylor, D.N.,
Changchawalit, S., Smyth, C.J., Twohig, J.,
Rowe, B., 1986:
Plasmid coding for colonization factor antigens
I and II, heat-labile enterotoxin, and heat-
stable enterotoxin A 2 in Escherichia coli
Infection and Immunity 51, 626-630
- Eisenstein, B.I., Ofek, I., Beachey, E.H., 1979:
Interference with the mannose binding and
epithelial cell adherence of Escherichia coli
by sublethal concentrations of Streptomycin
The Journal of Clinical Investigation 63,
1219-1228

- Eshdat, Y., Ofek, I., Yashouv-Gan, Y., Sharon, N.,
Mirelman, D., 1978:
Isolation of a mannose-specific lectin from
Escherichia coli and its role in the adherence
of the bacteria to epithelial cells
Biochemical and Biophysical Research
Communications 85, 1551-1559
- Evans, D.G., Evans, D.J., Jr., DuPont, H.L., 1977:
Virulence factors of enterotoxigenic Escheri-
chia coli
The Journal of Infectious Diseases 136, 118-123
- Evans, D.J., Jr., Evans, D.G., DuPont, H.L., 1979:
Hemagglutination patterns of enterotoxigenic
and enteropathogenic Escherichia coli deter-
mined with human, bovine, chicken, and guinea
pig erythrocytes in the presence and absence
of Mannose
Infection and Immunity 23, 336-346
- Faris, A., Wadström, T., Freer, J.H., 1981:
Hydrophobic adsorptive and hemagglutinating
properties of Escherichia coli possessing
colonization factor antigens (CFA/I or CFA/II),
type 1 pili, or other pili
Curr. Microbiol. 5, 67-72
- Frimmer, M., 1986:
Pharmakologie und Toxikologie
Schattauer Verlag

Gaastra, W., Graaf, F.K. de, 1982:

Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains
Microbiol. Rev. 46, 129-161

Gedek, B., 1968:

Hefen als Krankheitserreger bei Tieren
Gustav Fischer Verlag

Gedek, B., 1972:

Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien
innerhalb der Faecalflora von Wiederkäuern
Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig. A 220, 130-136

Gedek, B., 1975:

Zur Wirkung des Hefepräparates Parenterol®
Münch. med. Wschr. 117, 97-98

Gedek, B., 1980:

Kompodium der medizinischen Mykologie
Paul Parey Verlag

Gedek, B., 1986:

Probiotika in der Tierernährung
Wirkungen auf Leistung und Tiergesundheit
Kraftfutter 3, 80-84

Gerstl, F.; Semenitz, E., 1975:

Zur Morphologie der Geißeln und Fimbrien
von *Escherichia*-Stämmen
Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A 232, 48-54

González, E.A., Blanco, J., 1985:

Relation between antibiotic resistance and
number of plasmids in enterotoxigenic and non-
enterotoxigenic *Escherichia coli* strains
Med. Microbiol. Immunol. 174, 257-265

Graaf, F.K. de, Klaasen-Boor, P., Hees, J.E. van,
1980 a:

Biosynthesis of the K 99 surface antigen is
repressed by Alanine
Infection and Immunity 30, 125-128

Graaf, F.K. de, Klemm, P., Gaastra, W., 1980 b:

Purification, characterisation, and partial
covalent structure of *Escherichia coli* adhesive
antigen K 99
Infection and Immunity 33, 877-883

Graaf, F.K. de, Roorda, I., 1982:

Production, purification and characterization
of the fimbrial adhesive antigen F 41 isolated
from calf enteropathogenic *Escherichia coli*
strain B 41 M
Infection and Immunity 36, 751-758

Guinée, P.A.M., Jansen, W.H., 1979:

Behavior of *Escherichia coli* K antigens K 88ab,
K 88ac, and K 88ad in immunoelectrophoresis,
double diffusion, and hemagglutination
Infection and Immunity 23, 700-705

Hariharan, H., Barnum, D.A., 1974:

Antimicrobial drug susceptibility of certain
bacterial pathogens from dogs and cats
Can. Vet. Jour. 15, 108-112

Harnett, N.M., Gyles, C.L., 1985:

Linkage of genes for heat-stable enterotoxin,
drug resistance, K 99 antigen, and colicin in
bovine and porcine strains of enterotoxigenic
Escherichia coli
Am. J. Vet. Res. 46, 428-433

Hirschberger, M., Mirelman, D., Thaler, M.M., 1977:

The effects of Mannose and its derivatives on
interactions of pathogenic *E. coli* with newborn
intestinal mucosa
Gastroenterology 72, 1069

Hirsh, D.C., Ling, G.V., Ruby, A.L., 1980:

Incidence of R-plasmids in fecal flora of
healthy household dogs
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 17,
313-315

Honda, T., Arita, M., Miwatani, T., 1984:

Characterization of new hydrophobic pili of
human enterotoxigenic *Escherichia coli*: a
possible new colonization factor
Infection and Immunity 43, 959-965

Isaacson, R.E., 1977:

K 99 surface antigen of *Escherichia coli*:
purification and partial characterization
Infection and Immunity 15, 272-279

Isaacson, R.E., Fusco, P.C., Brinton, C.C.,

Moon, H.W., 1978:

In vitro adhesion of *Escherichia coli* to
porcine small intestinal epithelial cells: pili
as adhesive factors
Infection and Immunity 21, 392-397

Isaacson, R.E., Richter, P., 1981:

Escherichia coli 987P pilus: purification and
partial characterization
Journal of Bacteriology 146, 784-789

Isaacson, R.E., Colmenero, J., Richter, P., 1981:

Escherichia coli K 99 pili are composed of one
subunit species
FEMS Microbiology Letters 12, 229-232

Jann, K., Schmidt, G., Blumenstock, E., Vosbeck,
K., 1981:

Escherichia coli adhesion to *Saccharomyces ce-*
revisiae and mammalian cells: role of piliation
and surface hydrophobicity
Infection and Immunity 32, 484-489

Jentzen, A., 1979:

Untersuchungen über die Enterobacteriaceae-
Flora in den Darmausscheidungen des Hundes
unter besonderer Berücksichtigung von *Yersinia*
enterocolitica
Vet. Med. Diss., Berlin

Josse, M., Jacquemin, E., Kaeckenbeeck, A., 1980:

Présence chez le chien, d'*Escherichia coli* pro-
ductrices d'une enterotoxine thermostable (STa)
Ann. Méd. Vét. 124, 211-214

Källenius, G., Svenson, S.B., Hultberg, H., Möllby,
R., Helin, I., Cedergren, B., Winberg, J.,
1981:

Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in
urinary tract infections
The Lancet 19/26, 1369-1372

Knippers, R., 1982:

Molekulare Genetik
Thieme Verlag

Lebek, G., 1975:

Die infektiöse (plasmidische) bakterielle Anti-
biotikaresistenz
Internist 16, 416-427

Lebek, G., 1976

Antibiotika-Resistenz bei Salmonellen
Bundesgesundheitsblatt 19, 41-45

Levine, M.M., Rennels, M.B., Daya, V., Hughes,
T.P., 1980:

Hemagglutination and colonization factors in
enterotoxigenic and enteropathogenic *Escheri-*
chia coli that cause diarrhea

The Journal of Infectious Disease 141, 733-737

Levine, M.M., Ristaino, P., Marley, G., Smyth, C.,
Knutton, S., Boedeker, E., Black, R., Young,
C., Clements, M.L., Cheney, C., Patnaik, R.,
1984:

Coli surface antigens 1 and 3 of colonization
factor antigen II-positive enterotoxigenic
Escherichia coli: morphology, purification, and
immune responses in humans

Infection and Immunity 44, 409-420

Minton, N.P., Marsh, J., Atkinson, T., 1983:

The R-factors of multiple antibiotic resistant
faecal coliforms isolated from a domestic dog
Journal of Applied Bacteriology 55, 445-452

Mirelman, D., Altmann, G., Eshdat, Y., 1980:

Screening of bacterial isolates for mannose-
specific lectin activity by agglutination of
yeasts

Journal of Clinical Microbiology 11 328-331

Monaghan, C., Tierney, U., Colleran, E., 1981:

Antibiotic resistance and R-factors in the fe-
cal coliform flora of urban and rural dogs
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 19,

266-270

Mooi, F.R., Graaf, F.K. de, 1979:

Isolation and characterization of K 88 antigens
FEMS Microbiology Letters 5, 17-20

Moss, S., Frost, A.J., 1984:

The resistance to chemotherapeutic agents of
Escherichia coli from domestic dogs and cats
Australian Veterinary Journal 61, 82-84

Nagy, B., Moon, H.W., Isaacson, R.E., 1977:

Colonization of porcine intestine by enterotoxigenic *Escherichia coli*: selection of piliated forms in vivo, adhesion of piliated forms to epithelial cells in vitro, and incidence of a pilus antigen among porcine enteropathogenic *E. coli*
Infection and Immunity 16, 344-352

Nicolet, J., 1985:

Kompendium der veterinärmedizinischen Bakteriologie
Parey Verlag

Novick, R.P., 1981:

Plasmide
Spektrum der Wissenschaft, Februar, 35-51

Oberwallner, J., 1982:

Zum Vorkommen v. Chemotherapieresistenz bei
Staphylokokken und *Escherichia coli* vom Hund
Vet. Med. Diss., München

- Ofek, I., Mirelman, E., Sharon, N., 1977:
Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal
cells mediated by mannose receptors
Nature 265, 623-625
- Ofek, I., Beachey, E.H., 1978:
Mannose binding and epithelial cell adherence
of *Escherichia coli*
Infection and Immunity 22, 247-254
- Ofek, I., Beachey, E.H., Sharon, N., 1978:
Surface sugars of animal cells as determinants
of recognition in bacterial adherence
TIBS, July, 159-160
- Ofek, I., Beachey, E.H., 1980:
General concepts and principles of bacterial
adherence in animals and man
In: Beachey, E.H., Bacterial adherence
(receptors and recognition B 6), 5-29
- Olson, P., Hedhammar, A., Wadström, T., 1984:
Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in
two dogs with acute diarrhea
Journal Am. Veterin. Medic. Assoc. 184, 7-12
- Olson, P., Hedhammar, A., Faris, A., Krovacek, K.,
Wadström, T., 1985:
Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) and
Klebsiella pneumoniae isolated from dogs with
diarrhoea
Veterinary Microbiology 10, 577-589

Pal, R., Palchaudhuri, S., Ghose, A.C., 1984:

A self-transmissible plasmid of an enteropathogenic *Escherichia coli* strain codes for mannose-resistant haemagglutinin and for antibiotic resistance

FEMS Microbiology Letters 30, 139-143

Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.
Arbeitsgemeinschaft "Resistenz", 1980:

Resistenz klinischer Isolate einiger Enterobacteriaceae sowie *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus faecalis* gegenüber Chemotherapeutika: Ergebnisse einer überregionalen kooperativen Studie aus dem Jahre 1979

Infection 8, 307-308

Pearce, A.W., Buchanan, T.M., 1980:

Structure and cell membrane-binding properties of bacterial fimbriae

In: Beachey, E.H., Bacterial adherence

(receptors and recognition B 6), 305-344

Pethica, B.A., 1980:

The microbial cell surface and adhesion

In: Berkeley, R.C.W., Microbial adhesion to surfaces, 59-60

Petzinger, E., 1984:

Trends in der Arzneimittelterapie: Elektrolyttransporte im Darm. Ein Beitrag zur Pathophysiologie und Therapie Enterotoxin-verursachter Durchfälle

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 97, 83-89

Powell, D.W., 1984:

Enterotoxigenic diarrhea: mechanisms and prospects for therapy

Pharmac. Ther. 23, 407-416

Richter, Th., 1984:

Vorkommen und Eigenschaften enterotoxinbildender *Escherichia coli*-Stämme bei enteritiskranken Junghund

Vet. Med. Diss., Berlin

Rolle, M., Mayr, A., 1984:

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre

Enke Verlag, Stuttgart, 643 und 769-775

Rosenthal, 1942:

Agglutinating properties of *Escherichia coli*

J. Bact. 45, 545-550

Runnels, P.L., Moon, H.W., Schneider, R.A., 1980

Development of resistance with host age to adhesion of K 99 *Escherichia coli* to isolated intestinal epithelial cells

Infection and Immunity 28, 298-300

Sack, R.B., 1978:

The epidemiology of diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli*

The Journal of Infectious Diseases 137, 639-640

Saito, M., 1985:

Charakterisierung von *Escherichia coli*-Stämmen,
die bei durchfallkranken Hunden isoliert wurden
Vet. Med. Diss., München

Salit, I.E., Gotschlich, E.C., 1977:

Hemagglutination by purified type 1 *Escherichia coli* pili
The Journal of Experimental Medicine 146,
1169-1179

Satterwhite, T.K., DuPont, H.L., Evans, D.G.,

Evans, D.J., Jr., 1978:

Role of *Escherichia coli* colonisation factor
antigen in acute diarrhoea
The Lancet 2, 181-184

Sonnenschein, B., 1980:

Grundlagen und Bedeutung der Antibiotikaresi-
stenz von Bakterien
Dtsch. tierärztl. Wschr. 87, 289-328

Spagnoli, G., Ausiello, C., Casalnuovo, I.,

Antonelli, G., Dianzani, F., Cassone, A., 1985:
Candida albicans and a phosphorylated glucoman-
nan-protein fraction of its cell wall induce
production of immune interferon by human peri-
pheral blood mononuclear cells.
IRCS Med. Sci. 13, 1190-1191

Spencer, J.F.T., Gorin, P.A.J., 1973:

Mannose-containing polysaccharides of yeasts
Biotechnology and Bioengineering 15, 1-12

Thiemann Arzneimittel, 1984:

Perenterol®. Zur Behandlung von Darmerkrankungen

Thomas, L.V., Cravioto, A., Scotland, S.M., Rowe, B., 1982:

New fimbrial antigenic type (E8775) that may represent a colonization factor in enterotoxigenic *Escherichia coli* in humans
Infection and Immunity 35, 1119-1124

Tullus, K., Sjöberg, P., 1986:

Epidemiological aspects of P-fimbriated *E. coli*
Acta Paediatr. Scand. 75, 205-210

Walker, P.D., Nagy, L.K., 1980:

Adhesion of organisms to animal tissues
In: Berkeley, R.C.W., Microbial adhesion to surfaces, 473-494

Walter, A.M., Heilmeyer, L., 1975:

Antibiotika-Fibel
Thieme Verlag, Stuttgart

Weis, J., Grosser, J., 1979:

Vorkommen von antibiotika-resistenten *E. coli* beim Kalb, Schwein, Hund und Katze
Tierärztl. Umschau 34, 25-28

Wiedemann, B., 1974:

Die biologische Aktivität von Resistenz-Plas-
miden

Immunität und Infektion 2, 223-230

Wilk, S., 1981:

Untersuchungen zur Biochemie, Serologie, En-
teropathogenität und Antibiotikaresistenz von
E. coli-Stämmen gesunder und enteritiskranker
Hunde

Vet. Med. Diss., Hannover

Frau Prof. Dr. B. Gedek möchte ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung der Arbeit und für die jederzeit großzügig gewährte Unterstützung sehr herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr danke ich besonders für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Ebenso bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Abteilung für das angenehme Arbeitsklima und für die stets freundliche Hilfe.

Lebenslauf

Andras Gal

10.08.1954 geboren in Budapest (Ungarn)

Eltern Andras Gal und Etelka Gal, geb. Endrödy

1960-1968 Allgemeine Schule in Budapest

1968-1972 Gymnasium in Budapest mit Abitur

1975 Einreise nach Deutschland

1975-1979 Berufsausübung als Kraftfahrer und
Filmentwickler

1979-1980 Studienkolleg in München mit Abschluß

1980 Aufnahme des Studiums der Veterinärme-
dizin in München

1981 Hochzeit mit Heidemarie Brengel

1985 im Juni deutsche Einbürgerung
im November Staatsexamen

1986 im Januar Approbation als Tierarzt und
Beginn der Dissertation
im September Geburt meines Sohnes

